

DER KETOGENE EFFEKT DER GLUCOSE  
EIN BEITRAG ZUR RUMINALEN  
KETOGENESE

Ulrike Beck

1982



Aus dem Institut für Physiologie, Physiologische Chemie  
und Ernährungsphysiologie, Tierärztliche Fakultät  
der Universität München  
Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. D. Giesecke

DER KETOGENE EFFEKT DER GLUCOSE - EIN BEITRAG ZUR RUMINALEN  
KETOGENESE

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Ulrike Beck  
aus  
Freiburg/Br.

München 1982



Diese Arbeit wurde im Rahmen eines Forschungsvorhabens  
der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. G. Terplan  
Referent: Prof. Dr. D. Giesecke  
Korreferent: Priv.Doiz. Dr. Dr.habil. H. Nohl

Tag der Promotion: 26.Februar 1982



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

# INHALTSVERZEICHNIS

|          |                                                                     |    |
|----------|---------------------------------------------------------------------|----|
| 1.       | Einleitung und Problemstellung                                      |    |
| 1.1.     | Einleitung                                                          | 1  |
| 1.2.     | Die hepatische Ketogenese                                           | 2  |
| 1.3.     | Die ruminale Ketogenese                                             | 2  |
| 1.3.1.   | Die Morphologie des Pansenepithels                                  | 3  |
| 1.3.2.   | Der Einfluss der Fütterung auf das Pansenepithel                    | 3  |
| 1.3.3.   | Die funktionelle Entwicklung des Pansenepithels                     | 4  |
| 1.3.4.   | Der Stoffwechsel des Butyrats                                       | 5  |
| 1.3.4.1. | Entstehung, Resorption und Stoffwechsel im Pansenepithel            | 5  |
| 1.3.4.2. | Die Bedeutung der Ketonkörper für den Stoffwechsel des Wiederkäuers | 10 |
| 1.3.4.3. | Der Stoffwechsel des Butyrats nach Abgabe ins Pfortaderblut         | 12 |
| 1.4.     | Problemstellung                                                     | 13 |
| 2.       | Material und Methoden                                               |    |
| 2.1.     | Versuchsablauf                                                      | 15 |
| 2.1.1.   | Versuche mit suspendiertem Pansenepithel                            | 15 |
| 2.1.2.   | Versuche mit perfundiertem Pansenepithel                            | 17 |
| 2.2.     | Enzyme und Chemikalien                                              | 17 |
| 2.3.     | Gewebeproben und Spendertiere                                       | 18 |
| 2.4.     | Analytische Methoden                                                | 19 |
| 2.4.1.   | Die photometrische Bestimmung der Ketonkörper                       | 19 |
| 2.4.2.   | Die Präparation von $^{14}\text{C}$ -markierten Ketonkörpern        | 20 |
| 2.4.3.   | Radiometrische Methoden                                             | 20 |
| 2.5.     | Statistische Methoden                                               | 20 |

|       |                                                                                                                                                             |    |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.    | Ergebnisse                                                                                                                                                  |    |
| 3.1.  | Der Einfluss des Alters und der Fütterung auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels von Lämmern                                                        | 22 |
| 3.2.  | Der Einfluss von Glucose auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels von Lämmern                                                                         | 25 |
| 3.3.  | Die Oxydation von Glucose und Galaktose durch das Pansenepithel von neunwöchigen Lämmern                                                                    | 28 |
| 3.4.  | Die Abhängigkeit des Butyratstoffwechsels von der Tierart und der Butyratkonzentration                                                                      | 29 |
| 3.5.  | Der Einfluss von Glucose auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels von Rind und Schaf                                                                  | 31 |
| 3.6.  | Die Wirkung anderer Hexosen auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels                                                                                  | 34 |
| 3.7.  | Die Wirkungen von Verbindungen des Intermediärstoffwechsels auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels                                                  | 36 |
| 3.8.  | Der Einfluss von $\text{NH}_4^+$ -Ionen auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels und die Wechselwirkungen zwischen $\text{NH}_4^+$ -Ionen und Glucose | 38 |
| 3.9.  | Die Wirkung der Glucose auf die Ketogenese aus Isovalerianat                                                                                                | 41 |
| 3.10. | Der Einbau von Glucosekohlenstoff in Ketonkörper                                                                                                            | 42 |
| 3.11. | Versuche mit perfundiertem Pansenepithel                                                                                                                    | 43 |
| 4.    | Diskussion                                                                                                                                                  | 44 |
| 4.1.  | Die Abhängigkeit des Butyratstoffwechsels vom Alter der Tiere                                                                                               | 44 |
| 4.2.  | Die Regulation der Ketogenese im Pansenepithel im Vergleich zur Leber                                                                                       | 46 |

|      |                                                                                  |          |
|------|----------------------------------------------------------------------------------|----------|
| 4.3. | Die Bedeutung des Pansenepithels für den<br>Butyratstoffwechsel des Wiederkäuers | 51       |
| 4.4. | Allgemeine Folgerungen                                                           | 54       |
| 5.   | Zusammenfassung<br>Summary                                                       | 56<br>58 |
| 6.   | Literaturverzeichnis                                                             | 60       |



## 1.1. Einleitung

"Ketogene" und "glucogene" Wirkung sind im biochemisch-medizinischen Sprachgebrauch seit langem eingeführte gegensätzliche Begriffe. Sie bezeichnen z.B. bei den ketogenen (ketoplastischen) und glucogenen (glucoplastischen) Aminosäuren die katabole Transformation zu Ketonkörpern bzw. zu Glucose und werden auch bei anderen Verbindungen des Intermediärstoffwechsels wie etwa bei den kurzkettigen Fettsäuren aus der Vormagenfermentation sinngemäss angewendet.

Als wir (Giesecke, D., Beck, U., Wiesmayr, S., Stangassinger, M., 1978) die Beobachtung machten, dass Glucose im Pansenepithel die Bildung des Ketonkörpers BHB<sup>1)</sup> fördert, also selbst ketogen wirkt, trat ein grundsätzlicher Widerspruch zutage, der eine systematische Untersuchung des bis dahin unbekannten Phänomens herausforderte.

Dabei waren die auffälligen Veränderungen des Pansenepithels im Zuge der postnatalen Entwicklung, die physiologische Natur der ruminalen Ketogenese und tierartliche Eigenheiten besonders zu berücksichtigen.

Die Methoden und Ergebnisse der am Pansenepithel von Rind und Schaf durchgeführten Untersuchungen sind in dieser Schrift niedergelegt.

---

1) es werden folgende Abkürzungen verwendet:

AcAc : Acetoacetat

BHB :  $\beta$ -Hydroxybutyrat

NAD<sup>+</sup> bzw. NADH + H<sup>+</sup> : Nikotinamid-Adenosin-Dinukleotid, oxydierte bzw. reduzierte Form

-CoA : -Coenzym A

## 1.2. Die hepatische Ketogenese

Die hepatische Ketogenese spielt beim Wiederkäuer unter physiologischen Bedingungen eine unbedeutende Rolle (Übersicht bei Bergman, 1971). Sie setzt erst bei Glucosemangelzuständen wie hoher Milchleistung, zum Teil bei gleichzeitiger Energieunterversorgung (Dirksen, 1974), unzureichender Futteraufnahme infolge schwerer Erkrankungen (Dirksen, 1974) und Mehrlingsträchtigkeit (Reid, 1968) ein.

Dann ist der Organismus gezwungen, vermehrt Gluconeogenese zu betreiben, da einige Gewebe (Erythrozyten, ZNS) Glucose benötigen. Als Substrate werden vor allem glucoplastische Aminosäuren und das Glycerin der Triglyceride herangezogen. Die Folge ist ein massiver Fettabbau bei gleichzeitiger Unfähigkeit, die freiwerdenden Fettsäuren vollständig zu oxydieren, da zum einen der Fluss durch den Citratzyklus aus Oxalacetatmangel vermindert ist und zum anderen die gesteigerte  $\beta$ -Oxydation zu einem Überschuss an  $\text{NADH} + \text{H}^+$  führt, der seinerseits Oxydationsschritte des Citratzyklus hemmt.

Das aus den freien Fettsäuren gebildete Acetyl-CoA steht der Ketogenese als Substrat zur Verfügung. Der Wiederkäuerleber fehlt die BHB-Dehydrogenase fast völlig (Nielsen und Fleischer, 1969; Koundakjian und Snoswell, 1970; Varnam et al., 1971). Während ketotischer Zustände steigt daher beim Wiederkäuer im Gegensatz zum Monogastrier (Bates et al., 1968) vor allem das AcAc an.

Durch ihre antilipolytische Wirkung (Metz et al., 1974) hemmen die Ketonkörper ihre eigene Entstehung. Ob dieser Mechanismus während schwerer ketotischer Zustände noch zum Tragen kommt, ist ungeklärt.

## 1.3. Die ruminale Ketogenese

Die gesteigerte hepatische Ketogenese, die zum Krankheitsbild der bovinen Ketose führt, ist in jedem Fall Ausdruck einer tiefgreifenden Stoffwechselstörung.

Demgegenüber ist die ruminale Ketogenese als ein physiologischer Vorgang anzusehen, der für die deutlich höheren Blutketonkörperspiegel der Wiederkäuer (0,5 mMol/l gegenüber 0,1 mMol/l beim Monogastrier) verantwortlich ist. Da die BHB-Dehydrogenase im Pansenepithel reichlich vorhanden ist (DeLahunta, 1965; Koundakjian und Snoswell, 1970), entsteht vor allem BHB. Die ruminale Ketogenese kann als primäre, unabhängige Ketogenese der sekundären durch Glucosemangel bedingten hepatischen Ketogenese gegenübergestellt werden.

### 1.3.1. Die Morphologie des Pansenepithels

Die ruminale Ketogenese vollzieht sich im Epithel des Pansens, in ähnlicher Weise auch in dem des Netzes und Blättermagens. Von der Epithelmasse her gesehen dürfte jedoch nur das Pansenepithel von Bedeutung sein.

Der Pansen wird von einer kutanen Schleimhaut ausgekleidet. Wurde früher die Funktion des Pansenepithels vor allem im Schutz vor Verletzung durch grobe Futterbestandteile gesehen, so sind heute auch seine enormen Resorptionsleistungen bekannt. Die aus dem Pansen resorbierten kurzkettigen Fettsäuren machen durchschnittlich 60% der vom Tier aufgenommenen Energie aus (Bergman, 1965, Ørskov et al., 1971).

Histologisch unterscheidet sich das Resorptionsorgan Pansenepithel deutlich von anderen nicht resorbierenden verhornten Plattenepithelien wie der äusseren Haut. Es fallen vor allem der Mitochondrienreichtum (Hyden et al., 1965), eine ausgeprägte Glykokalix (Henrikson, 1970) und Unterschiede im Verhornungsmuster auf.

### 1.3.2. Der Einfluss der Fütterung auf das Pansenepithel

Das Pansenepithel vermag sich in grossem Umfang an die Nahrungsgewohnheiten des jeweiligen Tieres anzupassen. Erhöht sich der Energiebedarf und damit die aufgenommene Futtermenge während Gravidität und Laktation, so erhöht sich

ebenfalls das Gewicht des Pansenepithels bezogen auf das Schlachtgewicht (Weekes, 1971), der Mitoseindex steigt, die Zotten werden länger (Fell und Weekes, 1975).

Zottenlänge und -form spiegeln die Futterzusammensetzung von Wild- und Hauswiederkäuern wider (Hofmann, 1969, Weigand, 1976).

### 1.3.3. Die funktionelle Entwicklung des Pansenepithels

Wiederkäuer werden als funktionelle Monogastrier geboren, der Vormagen ist deutlich kleiner als der Labmagen (Godfrey, 1961; Warner und Flatt, 1965) und durch den Schlundrinnenreflex weitgehend von der Verdauungstätigkeit ausgeschlossen (Trautmann und Schmitt, 1933).

Erst die Aufnahme von festem Futter führt zum Nachlassen des Schlundrinnenreflexes und zur Entwicklung einer kräftigen Pansenwand (Tamate et al., 1962). Die aus dem festen Futter gebildeten kurzkettigen Fettsäuren stimulieren das Wachstum der Zotten. Dabei kommt dem Butyrat eine besondere Bedeutung zu (Sander et al., 1959).

In Versuchen am erwachsenen Tier fördert es die Mitose-tätigkeit des Epithels (Sakata, 1978a). Tageszeitliche Schwankungen im Mitoseindex des Pansenepithels hängen mit den Fütterungszeiten und daher mit den im Pansen herrschenden Butyratkonzentrationen zusammen (Sakata, 1978b).

Durch reine Milchfütterung kann die funktionelle Entwicklung unterbunden werden. Die Pansenwand bleibt schwach, das Epithel zart und zottenlos (Sander et al., 1959; Tamate et al., 1962).

Die mikrobielle Besiedlung, Voraussetzung für die physiologische Entwicklung des Pansens, beginnt am ersten Tag durch Kontakt mit der Mutter und kann mit drei bis vier Monaten als abgeschlossen gelten (Giesecke, 1973).

Die funktionelle Entwicklung des Pansenepithels bringt grundlegende Veränderungen in seinem Stoffwechselverhalten

mit sich (Giesecke et al., 1978). Bildet Glucose beim Jungtier noch das Hauptsubstrat, so treten durch den Beginn der Pansenfermentation die flüchtigen Fettsäuren in den Vordergrund. Die Aufnahme von Glucose vermindert sich drastisch, der Anteil des Lactats und Butyrats als Substrate der Atmung steigt dagegen beträchtlich an (Giesecke et al., 1978). Mit fünf bis sechs Wochen scheint die Entwicklung der Ketogenese aus Butyrat abgeschlossen zu sein (Hird und Weidemann, 1964).

#### 1.3.4. Der Stoffwechsel des Butyrats

##### 1.3.4.1. Entstehung, Resorption und Stoffwechsel im Pansenepithel

Hauptsubstrat der ruminalen Ketogenese ist das im Pansen gebildete Butyrat. Bei der Pansenfermentation entstehen pro Kilogramm Futtertrockenmasse vier bis sechs Mol kurzkettige Fettsäuren, hauptsächlich Acetat, Propionat und n-Butyrat, in geringem Umfang auch Isobutyrat, n-Valerianat und Isovalerianat (Bergman et al., 1965; Weston und Hogan, 1968). Der prozentuale Anteil der einzelnen Fettsäuren hängt von Fütterung und Umwelt des Tieres ab und unterliegt daher erheblichen individuellen Schwankungen.

Bei einer wiederkäuergerechten Ration mit genügend hohem Rohfaseranteil entfallen etwa zwei Drittel der gebildeten Fettsäuren auf Acetat, bei Zufütterung von leicht verdaulichen Kohlenhydraten und von gemahlenem Rauhfutter vermindert sich der Anteil zugunsten von Propionat und Butyrat. Der Anteil des Butyrats kann bis zu 30% erreichen (Brüggemann et al., 1966).

Daten aus einigen Fütterungsversuchen sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Die Gesamtkonzentration an flüchtigen Fettsäuren beträgt in

Tabelle 1

Einfluss der Fütterung auf die kurzkettigen Fettsäuren im Pansen

| Versuchstiere | Fütterung       | Molares Verhältnis der KFS (Mol%) |           |                      | Autoren      |
|---------------|-----------------|-----------------------------------|-----------|----------------------|--------------|
|               |                 | Acetat                            | Propionat | Butyrat <sup>+</sup> |              |
| Schaf         | Heu             | 71                                | 17,7      | 11,3                 | Giesecke     |
| "             | Heu+Kraftfutter | 58,5                              | 28,8      | 12,7                 | (1967)       |
| Rind          | "rohfaserreich" | 73,4                              | 21,7      | 4,9                  | Tsai et al.  |
| "             | "rohfaserarm"   | 62,8                              | 28,5      | 8,7                  | (1967)       |
| "             | Rüben           | 55                                | 21        | 24                   | Kaufmann und |
|               |                 |                                   |           |                      | Rohr (1967)  |

+ : im Butyratwert sind auch iso-Butyrat, n-Valerianat und iso-Valerianat enthalten

der Pansenflüssigkeit unter den meisten Fütterungsbedingungen 80-120 mMol/l (Bath und Rook, 1965), sie hängt jedoch massgeblich von den Fütterungsintervallen und dem Zeitpunkt der Probennahme ab (Gray et al., 1966).

Auch die Umgebungstemperatur beeinflusst die Produktionsrate und das Verhältnis der flüchtigen Fettsäuren zueinander. Wird sie von 18,2°C auf 37,7°C erhöht, so vermindert sich die Produktionsrate um 57%, gleichzeitig steigt der Anteil des Acetats von 62% auf 71% an (Kelley et al., 1967).

Aus der Pansenflüssigkeit wird Butyrat durch Diffusion entlang eines Konzentrationsgefälles resorbiert. Dieser Vorgang ist konzentrations- und pH-abhängig. Die undissoziierte Form wird besser resorbiert als die dissoziierte (Hörnicken, 1964; Weigand et al., 1972).

Beim Schaf werden unter physiologischen Bedingungen 76% der flüchtigen Fettsäuren im Pansen und weitere 19% in Blättermagen und Labmagen resorbiert (Weston und Hogan, 1968).

Da beim Rind der Blättermagen im Vergleich zum Pansen wesentlich kleiner ist als beim Schaf, sind diese Ergebnisse nicht ohne weiteres auf das Rind übertragbar.

Im Pansenepithel verteilt sich das Butyrat im wesentlichen auf zwei Stoffwechselwege: 1. die vollständige Oxydation zu  $\text{CO}_2$  und  $\text{H}_2\text{O}$  und 2. die unvollständige Oxydation zu Ketonkörper.

Über die Verteilung des Butyrats auf Oxydation und Ketogenese, sowie über die Beteiligung eines endogenen Acetyl-CoA-Pools an der Ketogenese finden sich in der Literatur auffallende quantitative Unterschiede. Tabelle 2 fasst diese zusammen.

Abbildung 1 stellt den Butyratstoffwechsel in einer Pansenepithelzelle schematisch dar.

Von der Verbindung AcAc-CoA ausgehend trennen sich im Pansenepithel die beiden Stoffwechselwege Oxydation und Ketogenese. Für die vollständige Oxydation wird AcAc-CoA in zwei Moleküle Acetyl-CoA gespalten und als solches in den Citratzyklus eingeschleust, für die Ketogenese wird es in

Tabelle 2

Literaturangaben zum Butyratstoffwechsel des Pansenepithels

| Tierart | Versuchsbedingungen         | Bu $\longrightarrow$ KK <sup>+</sup> | Anteil des Acetyl-CoA-Pools (%) | Autoren               |
|---------|-----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------|-----------------------|
| Kalb    | suspendierte Pansenzotten   | 90                                   | -                               | Weigand (1975)        |
| "       | suspendiertes Pansenepithel | 88                                   | -                               | Sutton et al. (1963)  |
| Schaf   | "                           | 82                                   | -                               | Emmanuel (1980)       |
| "       | "                           | 95                                   | 20                              | Hird + Symons (1961)  |
| "       | "                           | 61                                   | -                               | Pennington (1952)     |
| Rind    | "                           | 80                                   | 17                              | Goosen (1976)         |
| Kalb    | Butyratinfusion in Pansen   | 68-98                                | -                               | Hodson et al. (1965)  |
| "       | "                           | 33-78                                | -                               | Weigand et al. (1972) |
| Schaf   | "                           | 15                                   | 6-22                            | Leng + West (1969)    |

+ : Bu  $\longrightarrow$  KK = zu Ketonkörper umgewandeltes Butyrat in % des umgesetzten Butyrats



freies AcAc umgewandelt.

Nach Bush und Milligan (1971) existieren dafür drei Möglichkeiten:

1. Die Übertragung des CoA-Restes auf Succinat durch die Succinat-AcAc-Co A-Transferase (E.C.2.8.3.5.), auf diesen Weg entfallen 70%, Weg ① in Abbildung 1
2. Die Abspaltung des CoA-Restes durch das Enzym Deacylase (E.C.3.1.2.11.), diesem Weg entsprechen 16%, Weg ② in Abbildung 1
3. Die Entstehung von freiem AcAc im HMG-CoA-Weg, Weg ③ in Abbildung 1, dieser Weg liefert 14% des freien AcAc

Die Enzyme des HMG-CoA-Weges sind im Pansenepithel reichlich vorhanden (Baird et al., 1970).

Das freie AcAc wird über die BHB-Dehydrogenase grösstenteils in BHB übergeführt. Bei einem pH, wie er intrazellulär zu vermuten ist, verläuft die Reaktion ganz in Richtung des BHB (Krebs et al., 1962).

Die Ketonkörper werden vom Epithel ins Blut abgegeben, sie können vom Epithel selbst kaum verwertet werden (Leng und Annison, 1964).

Neben der Buttersäure fallen im Pansen weitere ketogene Substanzen an, hauptsächlich die ketogene Aminosäure Leucin und die daraus entstehende Isovaleriansäure. Auffallenderweise entsteht bei der Ketogenese aus diesen Substanzen vor allem AcAc. Wegen ihrer geringen Konzentrationen haben sie für die ruminale Ketogenese nur untergeordnete Bedeutung.

In noch geringeren Mengen lassen sich mittel- und langkettige Fettsäuren nachweisen, die -in unterschiedlichem Ausmass- ebenfalls ketogen wirken.

#### 1.3.4.2. Die Bedeutung der Ketonkörper für den Stoffwechsel des Wiederkäuers

Ketonkörper sind energiereiche Verbindungen und können von

vielen Organen zur Deckung ihres Energiebedarfs herangezogen werden (Leng und Annison, 1964). Sogar das Gehirn verstoffwechselt kleinere Mengen (Kammula, 1976).

Die Milchdrüse der Wiederkäuer baut BHB zum Grossteil als  $C_4$ -Einheit am Methylenende der Fettsäuren ins MilCHFett ein. Die eingebaute Menge entspricht einem Drittel des eingebauten Acetats (McCarthy et al., 1971). Im Gegensatz dazu verwendet die Milchdrüse der Ratte BHB nur in geringem Umfang und dann nur als  $C_2$ -Bruchstück (McCarthy et al., 1971).

AcAc wird in einigen Geweben bevorzugt abgebaut. Die arterio-venöse Differenz ist im Gehirn (Hawkins und Williamson, 1972) und im Muskel (Ruderman und Goodman, 1973) der Ratte für AcAc trotz niedrigerer Konzentration im Blut höher als für BHB. Im Dünndarm dagegen werden beide Ketonkörper ähnlich utlilisiert (Windmüller und Späth, 1978).

Training erhöht im Muskel die Aktivität von Enzymen, die für die Oxydation von Ketonkörpern benötigt werden. Der Muskel kann dadurch vermehrt Energie aus Ketonkörpern gewinnen (Winder et al., 1975).

Neben ihrer Funktion als Bau- und Brennstoffe kommt den Ketonkörpern eine Bedeutung als Regulatoren vor allem des Fettsäurenstoffwechsels zu. In Versuchen in vitro wurde eine direkte Hemmung der Lipolyse beobachtet (Metz et al., 1974).

Bei Mensch (Jenkins, 1970) und Hund (Madison, 1964) wirken Ketonkörper insulinogen, dies konnte beim Wiederkäuer nicht bestätigt werden (Horino et al., 1968; Kedenburg, 1972).

BHB und AcAc sind starke Säuren. Aufgrund ihres niedrigen pK-Wertes (4,41 für BHB und 3,58 für AcAc; Dawson et al., 1959) liegen sie im Blut beide zu über 99% in dissoziierter Form vor. Sie belasten daher den Säure-Basen-Haushalt des Organismus und führen unter ketotischen Bedingungen zu einer metabolischen Acidose. Diese ist beim ketotischen Wiederkäuer weniger stark ausgeprägt als beim ketotischen Monogastrier (Katz und Bergman, 1966). Die Ausscheidung der Ketonkörper über die Niere bedingt einen erheblichen Verlust

an  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$  und  $\text{NH}_4^+$ - Ionen sowie an Energie (Kaneko, 1970 ).

#### 1.3.4.3. Das Stoffwechselverhalten des Butyrats nach Abgabe ins Pfortaderblut.

Nach Aufnahme in die Leberzelle wird Butyrat in den Mitochondrien durch das Enzym Butyryl-CoA-Synthetase (E.C.6.2.1.2.) in Butyryl-CoA umgewandelt. Propionat vermag in der Leber die Aktivität dieses Enzyms zu hemmen, nicht jedoch im Pansenepithel (Ash und Baird, 1973). Die Autoren schlossen daraus, dass die Leber im Butyratstoffwechsel des Wiederkäuers nur von zweitrangiger Bedeutung ist. Dennoch ist die Fähigkeit der Leber unbestritten, Ketogenese zu betreiben, wenn die Konzentration in der Pfortader hoch genug ist (Holter et al., 1963).

Kann die Leber nicht alles Butyrat metabolisieren, so gelangt es in das periphere Blut und kann dann Einfluss auf den Glucosespiegel nehmen.

Kronfeld (1956) infundierte Schafen kurzzeitig Butyrat. Lag der Blutglucosespiegel im Normalbereich oder darunter, so stieg er an, lag er durch Infusion von Glucose darüber, so fiel er ab.

Vom Butyratkohlenstoff werden nur kleinste Mengen in Glucose eingebaut (Annison et al., 1963; Leng und White, 1964). Anand und Black (1970) bestimmten Gluconeogenese- und Glykogenolyserate nach kurzzeitiger Butyratinfusion bei kleinen Wiederkäuern und beim Rind. Bei ersteren ist eine erhöhte Glykogenolyse, bei letzterem eine erhöhte Gluconeogenese für den Anstieg der Blutglucose verantwortlich - ein auffälliger tierartlicher Unterschied.

Hohe Butyratgaben über längere Zeit senken den Blutglucosespiegel dagegen erheblich (Menahan et al., 1966). Diese Beobachtung wird durch Versuche in vitro von Sasaki und Mitarbeitern (1977) gestützt. Sie konnten eine deutliche Steigerung der Insulinsekretion durch Butyrat nachweisen.

Gleiche Ergebnisse werden durch die intravenöse Gabe von Butyrat erreicht (Horino et al., 1968; Hertlendy et al., 1969; Stern et al., 1970). Dagegen beeinflussen physiologische Butyratkonzentrationen im Pansen den Blutinsulinspiegel nicht, da die Konzentration des Butyrats im Blut weit unter den in vitro wirksamen Konzentrationen liegt (Stern et al., 1970).

#### 1.4. Problemstellung

Der Blutglucosespiegel des jungen Wiederkäuers liegt in Bereichen, wie sie für den Monogastrier bekannt sind. Im Alter von etwa vier Wochen beginnt er, unabhängig von Ernährung und Pansenentwicklung, stetig abzufallen, bis er im Alter von etwa zehn Wochen die für den Wiederkäuer typischen niedrigen Werte erreicht hat (Nicolai und Stewart, 1965). Die Ursachen für diese "ontogene Hypoglykämie" sind bisher ungeklärt. Parallel zum Abfall des Glucosespiegels verringert sich die Glucoseutilisation des Pansenepithels und die Ketogeneserate steigt (Giesecke, 1974; Giesecke et al., 1978). In einem Analogschluss zur Leber, wo Ketogenese und Glucosemangel eng miteinander verbunden sind, wurde zunächst vermutet, dass das Ansteigen der Ketogenese auf die "ontogene Hypoglykämie" zurückzuführen ist.

Deshalb sollte untersucht werden, ob in verschiedenen Stadien der Vormagenentwicklung die Ketogenese durch Zugabe von Glucose gehemmt werden kann.

Die ersten Ergebnisse dieser Arbeit liessen aber im Gegenteil einen ketogenen Effekt der Glucose erkennen (Giesecke et al., 1978; Stangassinger et al., 1979). Darin unterschied sich die ruminale Ketogenese wesentlich von der hepatischen.

Es erschien daher notwendig, der Wirkungsweise des ketogenen Effektes von Glucose und damit auch der Regulation des Bu-

tyrattstoffwechsels auf den Grund zu gehen.

Die hepatische Ketogenese wird als sekundäre, durch Mangel an Glucose und Oxalacetat bedingte Ketogenese über das Angebot an Malonyl-CoA, der Ausgangssubstanz der Fettsäuresynthese, und durch die intramitochondriale Oxalacetat-Konzentration reguliert. Erstere bestimmt den Eintritt des Acetyl-CoA in die Fettsäuresynthese, letztere den Eintritt in den Citratzyklus und damit die vollständige Oxydation. Liegt die Konzentration beider Metabolite bei Glucosemangel sehr niedrig, so wird das Acetyl-CoA in die Ketogenese geleitet. Wie aber wird die Ketogenese im Pansenepithel reguliert, wo die Stoffwechselwege Gluconeogenese und Fettsäuresynthese, die letztlich die hepatische Ketogeneserate bestimmen, kaum eine Rolle spielen (Young et al., 1969)?

Welche Vorteile bietet die Ketogenese für das Pansenepithel und den gesamten Organismus?

Aus verschiedenen Gründen wurde für die Beantwortung dieser Fragen die Methode *in vitro* gewählt.

Zum ersten lässt sich nur *in vitro* an einem so weitgefächerten Tiermaterial arbeiten, wie es für die Fragestellung dieser Arbeit nötig war.

Zum zweiten können nur *in vitro* die Konzentrationen einzelner Metabolite in so weiten Grenzen variiert und ihre Auswirkungen ohne den Einfluss anderer Substanzen beobachtet werden.

Zum dritten ist es sehr schwer, *in vivo* den Butyratstoffwechsel der Leber von dem des Pansenepithels zu trennen. Gerade bei solchen Konzentrationen im Pansen, die an der Grenze des Physiologischen liegen, gelangt soviel Butyrat ins Pfortaderblut, dass der Stoffwechsel der Leber quantitativ eine Rolle spielen muss. *In vitro* jedoch wird nur der Stoffwechsel der Mucosa und der anhaftenden stoffwechselträgen Bindegewebsschichten gemessen.

Zum vierten ist bei längerer Verwendung eine Sensibilisierung der Versuchstiere für Butyrat nicht auszuschließen (Stangassinger, mündliche Mitteilung).

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Versuchsablauf

#### 2.1.1. Versuche mit suspendiertem Pansenepithel

An isoliertem Pansenepithel wurden in einem Ansatz Butyratoxydation und Ketogenese oder Glucose- bzw. Galaktoseoxydation und Ketogenese gemessen. Deshalb mussten radioaktiv markierte Substanzen ( $2\text{-}^{14}\text{C}$ -Butyrat, universal  $^{14}\text{C}$  markierte Glucose und Galaktose) eingesetzt werden. Pansenepithelstücke wurden in 50 ml Erlenmeyerkolben mit einem seitlich an der Innenwand befindlichem Absorptionsgefäß inkubiert. Verschllossen wurden die Gefäße mit einem durchstechbaren Gummistopfen (rubber septum, Firma Janssen Biochemica).

Nach einer Stunde Inkubation im Schüttelwasserbad (80 Schwingungen pro Minute) bei  $39^{\circ}\text{C}$  wurden mittels Injektionsnadel und -spritze 1 ml 6 molarer  $\text{HClO}_4$  in den Hauptraum und 0,5 ml gesättigte KOH in das Absorptionsgefäß gebracht. Danach wurde eine weitere Stunde geschüttelt, um das aus dem angesäuerten Medium ausgetriebene  $^{14}\text{CO}_2$  quantitativ in der KOH aufzufangen. Die KOH wurde quantitativ in ein Zählfläschchen übergeführt und zur radiometrischen Messung vorbereitet. Das Epithelstück wurde zur Trockenmassenbestimmung 24 Stunden bei  $100^{\circ}\text{C}$  getrocknet.

Vom Inkubationsmedium wurden 10 ml mit KOH auf pH 8-9 eingestellt, sofort gekühlt und zentrifugiert. Im Überstand wurden die Ketonkörper BHB und AcAc bestimmt. In Abbildung 2 ist die Versuchsanordnung zeichnerisch dargestellt.

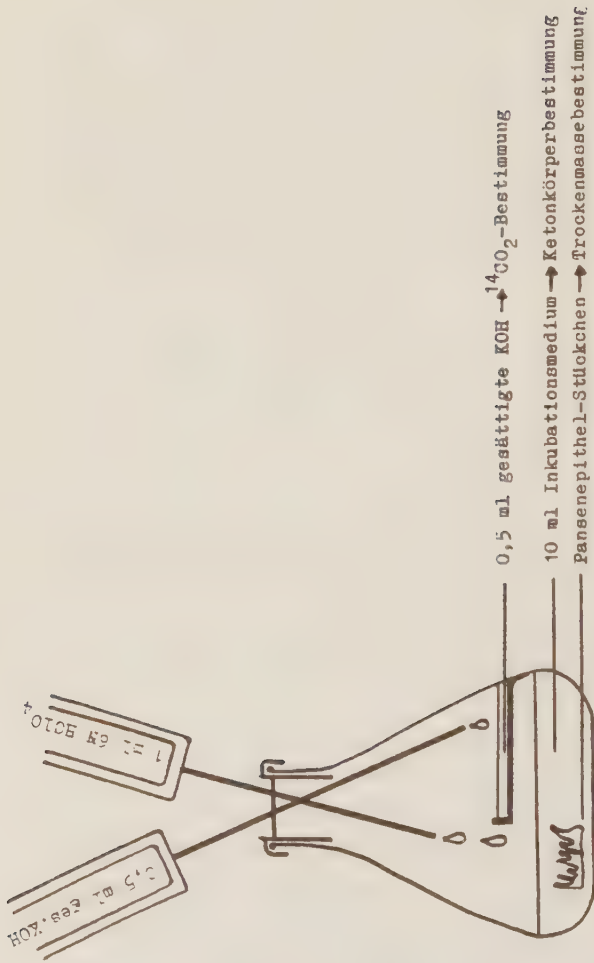


Abbildung 2  
Versuchsanordnung

### 2.1.2. Versuche mit perfundiertem Pansenepithel

Da Glucose physiologischerweise nur von der antiluminalen Seite das Pansenepithel erreicht, suspendiertes Epithel aber von allen Seiten von Glucose umspült wird, wurde Pansenepithel in einer Perfusionskammer inkubiert. Technische Einzelheiten der Kammer sind bei Medl (1978) beschrieben. Die Löcher, die für die Agarbrücken vorgesehen sind, wurden überklebt.

Das Epithel wurde sehr gründlich gewaschen und erst dann von den anhaftenden Schichten getrennt. Da die Kammer nicht für so grobe Epithelien wie das Pansenepithel des Rindes vorgesehen ist, musste auf Epithel vom Pansenpfeiler ausgewichen werden, das allerdings eine deutlich geringere Stoffwechselaktivität aufweist.

Die einzelnen Inkubationskammern enthielten auf der serösen Seite 5 mM Glucose in 10 mM Butyratlösung oder nur 10 mM Butyratlösung, auf der mucösen Seite in allen Ansätzen 10 mM Butyratlösung. Nach einer Stunde Inkubation wurde ein Aliquot entnommen und darin Ketonkörper bestimmt.

Als Kontrolle dienten Ansätze des gleichen Epithels in Erlenmeyerkolben.

### 2.2. Enzyme und Chemikalien

Puffer: Krebs-Henseleit-Puffer pH 7,2 (Elliott, 1955), vor Versuchsbeginn 15 Minuten mit Carbogen begast und auf 39 °C erwärmt. Die Substanzen für den Puffer wurden von Merck, Darmstadt bezogen und waren von p.a. Qualität.

Gase: Medizinischer Sauerstoff in der tragbaren 2L-Flasche von Oxyparat<sup>R</sup>, Fa. Allihn und Co., München; Carbogen (95% O<sub>2</sub>+5% CO<sub>2</sub>) nachgereinigt von Fa. Linde und Co.

Enzyme und Co-Enzyme: D(-)BHB-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.30) sowie  $\beta$ -NAD<sup>+</sup> und NADH<sub>2</sub>, beide als Natriumsalze von höchster Reinheit, stammten von Boehringer, Mannheim.

Substrate: Butyrat, i-Valerianat (Merck, Darmstadt), DL-Lactat (Roth, Karlsruhe), Pyruvat, Malat, Aspartat, Malonat (Sigma) lagen als Natriumsalze von p.a. Qualität vor. Die verwendeten nicht metabolisierbaren Zucker wurden in p.a. Qualität von Merck, Darmstadt, bezogen.

Radioisotope: 2- $^{14}\text{C}$ -Butyrat, 3- $^{14}\text{C}$ -BHB sowie U- $^{14}\text{C}$  markierte Glucose und Galaktose stammten von Amersham-Buchler (Braunschweig).

### 2.3. Gewebeproben und Spendertiere

Pansenepithel für die Versuche zur Altersabhängigkeit der Ketogenese wurde unter Narkose vom cranialen ventralen Pansensack entnommen. Spendertiere waren Lämmer der Merinolandrassse im Alter von einer bis neun Wochen. Die einwöchigen Tiere wurden mit Muttermilch ernährt. Die älteren Tiere wurden mit etwa 14 Tagen aufgestellt und über eine Lämmerbar mit Milchaustauscher ad libitum gefüttert. Diese Tiere lieferten das vierwöchige unentwickelte Epithel. Im Alter von etwa vier Wochen wurden die übrigen Lämmer in zwei Gruppen geteilt. Die eine wurde weiterhin mit Milchaustauscher ernährt. Dadurch blieb die funktionelle Entwicklung des Vormagens aus. Die zweite Gruppe wurde schrittweise auf eine wiederkäuergerechte Heu-Kraftfutterration umgestellt. Ihr Vormagensystem entwickelte sich physiologisch. Einzelheiten über Fütterung und Narkose sind der Arbeit von Scharrer und Blatt (1976) zu entnehmen. Das Epithel wurde von anhaftendem Muskel- und Bindegewebe befreit und mit 39°C warmem, oxygeniertem Puffer gespült, bis die Spülflüssigkeit klar blieb, in Stücke von etwa 0,25 cm<sup>2</sup> Fläche geschnitten und inkubiert.

Pansenepithelproben von Rindern wurden auf dem Zentralschlachthof München am Fließband entnommen. Das Epithel wurde an Ort und Stelle von anhaftendem Gewebe befreit und in 39°C warmem Puffer unter O<sub>2</sub>-Begasung ins Labor ge-

bracht. Vom Zeitpunkt der Schlachtung bis zur Inkubation vergingen 60-90 Minuten.

## 2.4. Analytische Methoden

### 2.4.1. Die photometrische Bestimmung der Ketonkörper

BHB: BHB wurde in Anlehnung an die Methode von Williamson und Mellanby (1962) bestimmt. Gemessen wurde an einem Eppendorf-Photometer mit Halbmikro-Durchflusssküvette bei 366 nm.

Die Proben wurden nicht in Küvetten, sondern in Reagenzgläsern angesetzt, 15 Minuten bei Zimmertemperatur stehengelassen und dann der Leerwert jeder einzelnen Probe bestimmt. Dazu wurden von den Ansätzen je 0,5 ml zum Spülen der Küvette und 0,5 ml zum Messen des Leerwertes entnommen. Dem in den Reagenzgläsern verbleibenden Rest wurden 0,01 ml BHB-Dehydrogenase zugesetzt. Nach 90 Minuten Inkubation bei Zimmertemperatur wurde nochmals die Extinktion abgelesen. In diesem Zeitraum wird BHB quantitativ umgesetzt. Die Wiederfindung im Standard betrug  $99 \pm 0,4 \%$ .

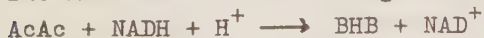
Die Reaktion verläuft nach folgender Gleichung:



AcAc: Für die AcAc-Bestimmung konnte die Methode von Mellanby und Williamson (1962) nur teilweise übernommen werden. Die Ansätze und die Messung des Leerwertes erfolgte wie bei der BHB-Bestimmung. Eine zweite Änderung betraf den Puffer. Da das Inkubationsmedium  $\text{CaCl}_2$  enthielt, fiel bei der Bestimmung unlösliches  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  aus. Deswegen wurde der Phosphatpuffer durch einen Trispuffer von gleichem pH ersetzt.

Die Wiederfindung von AcAc im Standard betrug  $97 \pm 0,67\%$ .

Die Reaktion verläuft folgendermassen:



Gemessen wird die NADH-Abnahme bei 366 nm.

#### 2.4.2. Die Präparation von $^{14}\text{C}$ -markierten Ketonkörpern

Um festzustellen, wieviel Glucosekohlenstoff in Ketonkörper eingebaut wird, wurde die zugesetzte Glucose hoch markiert (1-2 Mio IPM/Ansatz). Inkubation und Aufbereitung des Mediums erfolgten wie oben beschrieben.

Die Ketonkörper wurden mit der Conway-Diffusionsmethode nach Emmanuel et al. (1979) präpariert.

Die Wiederfindung von  $^{14}\text{C}$ -markiertem BHB betrug 87%.

#### 2.4.3. Radiometrische Bestimmungen

Um die Oxydation von Butyrat, Glucose und Galaktose bestimmen zu können, mussten die Substanzen radioaktiv markiert werden. Glucose und Galaktose lagen universal markiert, Butyrat am C-Atom 2 positionsmarkiert vor. Die Aktivität im Ansatz betrug 8000 IPM beim Butyrat bzw. 100000 IPM bei den Zuckern. Bei der Oxydation entsteht  $^{14}\text{CO}_2$ , das beim Ansäuern des Mediums aus diesem ausgetrieben und in der KOH im Absorptionsgefäß aufgefangen wird. Die KOH wird mit 3x1 ml Wasser in ein Zählfläschchen ausgewaschen und mit Wasser auf 10 ml aufgefüllt. Dann werden 10 ml Szintillationsflüssigkeit (Unisolve<sup>R</sup>, Koch-Light-Laboratories Ltd., Colnbrook) zugegeben und die Proben in einem Szintillationszähler (Packard Tricarb Scintillation Spectrometer, Modell 3385) 10 Minuten lang gezählt.

#### 2.5. Statistische Methoden

Die Ergebnisse sind als Mittelwerte und Standardfehler (S.E.M.) angegeben.

Da für jedes Substrat ein Butyratwert vom gleichen Tier

vorliegt, können die Unterschiede mit dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen (Sachs 1972) auf ihre Signifikanz gegen Null geprüft werden. Die Unterschiede zwischen Rind und Schaf wurden mit dem Lordtest (Sachs 1972) geprüft. Die Berechnung von linearen Regressionen und deren Korrelationskoeffizienten erfolgte ebenfalls nach den von Sachs angegebenen Methoden.

Die Korrelationskoeffizienten wurden nach den Geigy-Tabellen (Documenta Geigy 1968) auf Signifikanz geprüft.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Der Einfluss des Alters und der Fütterung auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels von Lämmern

Um den Einfluss der Glucose auf die Ketogenese im Pansenepithel während unterschiedlicher Entwicklungsstadien beurteilen zu können, war es zunächst nötig, den Einfluss des Alters und der funktionellen Entwicklung allein zu untersuchen.

Die Versuche wurden an Pansenepithel von ein- bis neunwöchigen Milch- und neunwöchigen Heu-Kraftfutter-Lämmern durchgeführt (siehe 2.3.).

Schon im Alter von wenigen Tagen ist das Pansenepithel in der Lage, beträchtliche Mengen an Butyrat über die Oxydation zu  $\text{CO}_2$  und die Ketogenese zu metabolisieren, obwohl Butyrat in diesem Alter noch nicht in nennenswertem Ausmaß im Pansen entsteht. Bei der Ketogenese fällt vor allem BHB an (BHB:AcAc beim einwöchigen Lamm = 2,88). Seine Konzentration steigt während der Entwicklung stärker an als die des AcAc. Dadurch wird das BHB:AcAc-Verhältnis zwangsläufig weiter,

bis etwa zur vierten Lebenswoche verändert sich die Fähigkeit zur Ketogenese kaum, steigt dann aber beträchtlich an. Dabei spielen offenbar sowohl das Alter als auch die durch die Änderung der Nahrungsbeschaffenheit bedingte funktionelle Entwicklung eine entscheidende Rolle. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Der durch das Alter bedingte Zuwachs liegt absolut betrachtet etwas unter dem durch die funktionelle Entwicklung bedingten, ist prozentual gesehen aber weit bedeutender (beim BHB +167% von vier Wochen milchgefüttert auf

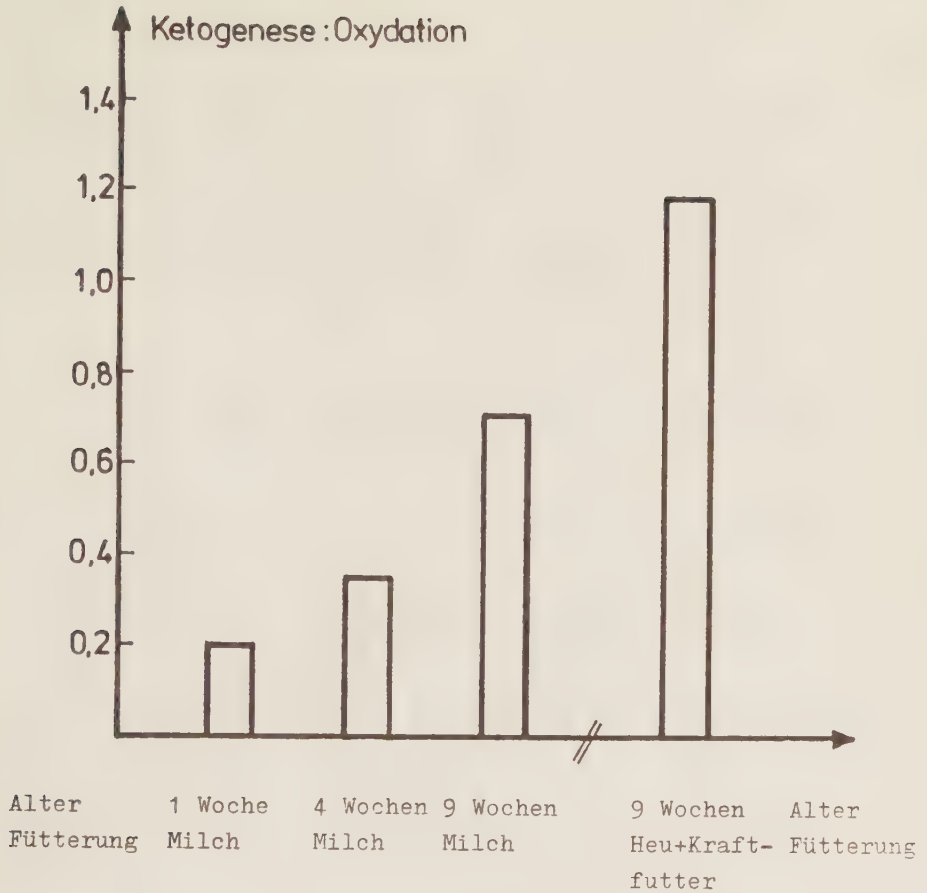


Abbildung 3

Der Einfluss von Alter und funktioneller Entwicklung  
auf das Verhältnis Ketogenese : Oxydation

Tabelle 3  
Abhängigkeit der Ketogenese von Alter und Fütterung

| Alter<br>Fütterung<br>Tierzahl | 1 Woche<br>Milch<br>n = 4                                               | 4 Wochen<br>Milch<br>n = 6 | 9 Wochen<br>Milch<br>n = 6 | 9 Wochen<br>Heu+Kraftfutter<br>n = 6 |
|--------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Substrat                       | Ketonkörper, Angaben in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrockenmasse $\times$ h |                            |                            |                                      |
| 10 mM                          | BHB<br>14,54 $\pm$ 1,33                                                 | 19,69 $\pm$ 3,74           | 52,55 $\pm$ 11,62          | 97,58 $\pm$ 20,09                    |
| Butyrat                        | AcAc<br>5,05 $\pm$ 2,28                                                 | 5,76 $\pm$ 1,34            | 19,35 $\pm$ 4,6            | 15,66 $\pm$ 4,69                     |
|                                | Gesamt<br>19,59 $\pm$ 5,05                                              | 25,45 $\pm$ 4,77           | 71,90 $\pm$ 13,5           | 113,24 $\pm$ 22,10                   |

9 Wochen milchgefüttert gegenüber +86% von 9 Wochen milchgefüttert auf 9 Wochen Heu-Kraftfutter-gefüttert).

Die Konzentration des AcAc steigt nur altersbedingt zwischen der vierten und neunten Woche auf das Dreifache an, die funktionelle Entwicklung bringt keinen Zuwachs mehr. Die Butyratoxydation ist, wie aus Tabelle 5 ersichtlich, schon im Alter von einer Woche voll entwickelt und verändert sich weder durch das Alter noch durch die funktionelle Entwicklung des Pansenepithels.

### 3.2. Der Einfluss von Glucose und Galaktose auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels von Lämmern

Das Ansteigen der Ketogeneserate während der Entwicklung zum Wiederkäuer könnte von einem Glucosemangel des Epithels herrühren (siehe 1.3.). Wäre dies der Fall, so müsste die Ketogeneserate absinken, wenn dem Medium Glucose zugesetzt wird. Wie Tabelle 4 zeigt, ist genau das Gegenteil der Fall: Glucose wirkt ketogen.

Diese Eigenschaft verliert sich keineswegs mit dem Alter, wie man annehmen könnte, vielmehr wächst der Einfluss der Glucose mit zunehmendem Alter.

Schon bei einwöchigen Lämmern vermag Glucose die Ketogeneserate um 41% anzuheben, bei vierwöchigen Milchlämmern erreicht der Zuwachs mit +82% sein Maximum und sinkt beim neunwöchigen entwickelten Epithel auf +52% ab. Die Menge des AcAc wird durch Glucosegabe nicht signifikant verändert.

Auf die Butyratoxydation wirkt Glucose hemmend (Tabelle 5). Diese Hemmung entwickelt sich langsamer als die Förderung der Ketogenese und erreicht ihren Höhepunkt bei den neunwöchigen Lämmern. Zwischen entwickeltem und unentwickeltem Epithel besteht in dieser Hinsicht kein Unterschied.

Tabelle 4

Der Einfluss von Glucose und Galaktose auf die Ketogenese in  
Abhängigkeit von Alter und Fütterung

| Alter<br>Fütterung<br>Tierzahl            | 1 Woche<br>Milch<br>n = 4                                               | 4 Wochen<br>Milch<br>n = 6 | 9 Wochen<br>Milch<br>n = 6 | 9 Wochen<br>Heu+Kraftfutter<br>n = 6 |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Substrate                                 | Ketonkörper, Angaben in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrockenmasse $\times$ h |                            |                            |                                      |
| 10 mM                                     | BHB<br>14,54 $\pm$ 1,33                                                 | 19,69 $\pm$ 3,74           | 52,55 $\pm$ 11,62          | 97,58 $\pm$ 20,09                    |
| Butyrat                                   | AcAc<br>5,05 $\pm$ 2,28                                                 | 5,76 $\pm$ 1,34            | 19,35 $\pm$ 4,6            | 15,66 $\pm$ 4,69                     |
| 10 mM<br>Butyrat<br>+ 2,2 mM<br>Glucose   | BHB<br>24,27 $\pm$ 7,03                                                 | 41,57 $\pm$ 5,28           | 113,99 $\pm$ 13,59         | 158,12 $\pm$ 18,77                   |
|                                           | AcAc<br>3,16 $\pm$ 0,59                                                 | 4,69 $\pm$ 1,27            | 13,18 $\pm$ 1,82           | 14,85 $\pm$ 3,32                     |
| Differenz                                 | BHB<br>+68                                                              | +111 <sup>+</sup>          | +117 <sup>+</sup>          | +62 <sup>+</sup>                     |
| (%)                                       | AcAc<br>-37                                                             | -19                        | -32                        | -5                                   |
| 10 mM<br>Butyrat<br>+ 2,2 mM<br>Galaktose | BHB<br>21,48 $\pm$ 4,64                                                 | 31,64 $\pm$ 2,9            | 78,33 $\pm$ 14,94          | 108,38 $\pm$ 21,24                   |
|                                           | AcAc<br>3,28 $\pm$ 1,05                                                 | 5,93 $\pm$ 1,78            | 16,57 $\pm$ 5,9            | 18,3 $\pm$ 1,91                      |
| Differenz                                 | BHB<br>+48                                                              | +61 <sup>+</sup>           | +49 <sup>+</sup>           | +11 <sup>+</sup>                     |
| (%)                                       | AcAc<br>-35                                                             | -19                        | -14                        | +17                                  |

+ : p < 0,05

Tabelle 5

Der Einfluss von Glucose und Galaktose auf die Butyrateoxydation in Abhängigkeit von Alter und Fütterung

| Alter<br>Fütterung<br>Tierzahl         | 1 Woche<br>Milch<br>n = 4                                                   | 4 Wochen<br>Milch<br>n = 6 | 9 Wochen<br>Milch<br>n = 6 | 9 Wochen<br>Heu+Kraftfutter<br>n = 6 |
|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------------------|
| Substrate                              | zu CO <sub>2</sub> oxydiertes Butyrat in $\mu$ Mol/g Gewebetrockenmasse x h |                            |                            |                                      |
| 10 mM Butyrat                          | 95,52 $\pm$ 22,79                                                           | 73,22 $\pm$ 11,31          | 100,6 $\pm$ 25,64          | 94,99 $\pm$ 1,76                     |
| 10 mM Butyrat<br>+ 5 mM Glucose        | 95,26 $\pm$ 36,67                                                           | 54,37 $\pm$ 11,68          | 72,33 $\pm$ 18,09          | 78,05 $\pm$ 22,14                    |
| Differenz (%)                          | $\pm$ 0                                                                     | -25,7 <sup>+</sup>         | -28,1 <sup>+</sup>         | -17,8 <sup>+</sup>                   |
| 10 mM Butyrat<br>+ 2,2 mM<br>Galaktose | 90,37 $\pm$ 36,67                                                           | 62,09 $\pm$ 11,06          | 74,82 $\pm$ 18,78          | 118,5 $\pm$ 25,45                    |
| Differenz (%)                          | -5,4                                                                        | -15,2                      | -25,6 <sup>+</sup>         | +14,2 <sup>+</sup>                   |

+ : p < 0,05

Über die Laktose der Milch nimmt das Milchlamm neben Glucose auch Galaktose auf, beim Milchkalb sind Galaktosewerte von 0,17 mMol/l in der vena iugularis nachgewiesen (Gropp, 1973). Daher wurde dem Medium in gesonderten Ansätzen auch Galaktose zugefügt. Galaktose verhält sich ähnlich wie Glucose (Tabelle 4 und 5), und zwar auch beim bereits entwöhnten Lamm. Dies erstaunt insofern, als beim entwöhnten Tier Galaktose im Blut nicht mehr nachweisbar und also kein physiologisches Substrat des Pansenepithels ist.

### 3.3. Die Oxydation von Glucose und Galaktose durch das Pansenepithel von neunwöchigen Lämmern

Obwohl sie in geringerer Konzentration vorlag, wurde Galaktose in grösserem Umfang oxydiert als Glucose. Der Unterschied ist bei Milchlämmern gravierender als bei Heu-Kraftfutter-Lämmern. Auffallenderweise oxydiert das Pansenepithel von Milchlämmern etwas weniger Glucose als das der Heu-Kraftfutter-Lämmer.

Da die Zucker universal markiert waren, können die Ergebnisse nur als  $\mu\text{Mol}$  Zuckerkohlenstoff angegeben werden.

Tabelle 6

Die Oxydation von Glucose und Galaktose durch das Pansenepithel von neunwöchigen Lämmern

| Fütterung<br>Tierzahl               | Milch<br>n = 6                                                         | Heu+Kraftfutter<br>n = 6 |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------|
| Substrate                           | $\mu\text{Mol}$ oxydierter Zucker-Kohlenstoff/g Gewebetrockenmasse x h |                          |
| 10 mM Butyrat<br>+ 5 mM Glucose     | 41,16 $\pm$ 3,9                                                        | 51,66 $\pm$ 4,79         |
| 10 mM Butyrat<br>+ 2,2 mM Galaktose | 59,93 $\pm$ 18,12                                                      | 60,06 $\pm$ 16,26        |

### 3.4. Die Abhängigkeit des Butyratstoffwechsels von der Tierart und der Butyratkonzentration

Hinsichtlich des Butyratstoffwechsels bestehen zwischen Rind und Schaf nur geringe Unterschiede.

Tabelle 7

Der Butyratstoffwechsel des Pansenepithels bei Rind und Schaf

| Tierart                      | Rind (n = 6)                                         | Schaf (n = 6)     |
|------------------------------|------------------------------------------------------|-------------------|
| Umsatz von Butyrat als       | Angaben in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrocknenmasse x h |                   |
| BHB                          | 19,9 $\pm$ 2,06                                      | 25,85 $\pm$ 4,45  |
| AcAc                         | 4,85 $\pm$ 1,4                                       | 2,21 $\pm$ 0,61   |
| Oxydation zu CO <sub>2</sub> | 57,81 $\pm$ 9,96                                     | 67,31 $\pm$ 10,3  |
| Gesamt                       | 82,56 $\pm$ 4,8                                      | 95,37 $\pm$ 9,85  |
| BHB/AcAc                     | 4,1 <sup>+</sup>                                     | 11,7 <sup>+</sup> |
| Ketogenese/Oxydation         | 0,428                                                | 0,417             |

+ :  $p < 0,05$

Die pro Zeit- und Gewichtseinheit umgesetzte Butyratmenge liegt beim Schaf etwas höher als beim Rind, wobei sich das Butyrat ähnlich auf Ketogenese und Oxydation verteilt. Am deutlichsten unterscheiden sich die beiden Tierarten im Verhältnis BHB:AcAc. Dieses liegt beim Rind bei 4,1 und beim Schaf bei 11,7, was auf einen reduzierteren Zustand des Schafepithels schliessen lässt.

Die Abhängigkeit des Butyratstoffwechsels von der Butyratkonzentration wurde am Pansenepithel vom Rind untersucht. Trotz der grossen Konzentrationsspanne blieb die pro Zeit- und Gewichtseinheit umgesetzte Menge an Butyrat gleich, das Verhältnis Ketogenese:Butyratoxydation veränderte sich jedoch grundlegend (Abbildung 4). Während bei niedrigen Konzentrationen eindeutig die Oxydation überwiegt (Ketogenese: Oxydation = 0,15), gewinnt die Ketogenese bei höheren Kon-

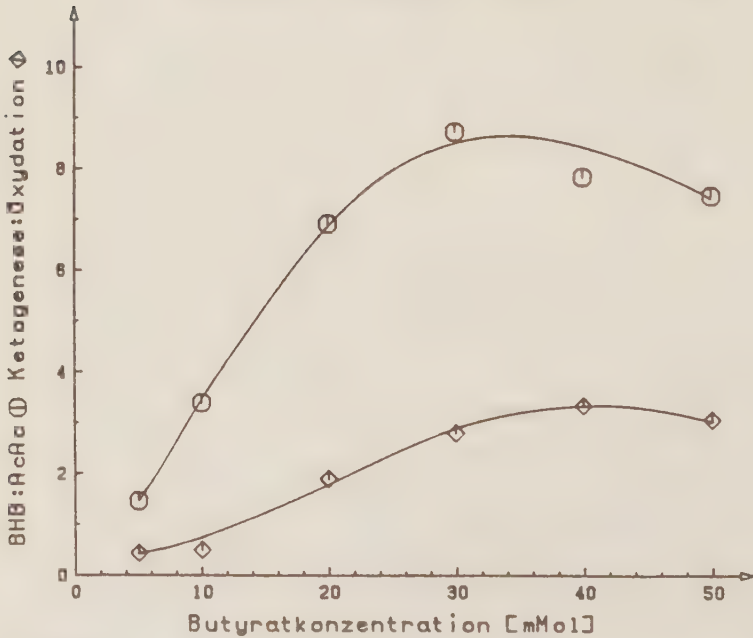
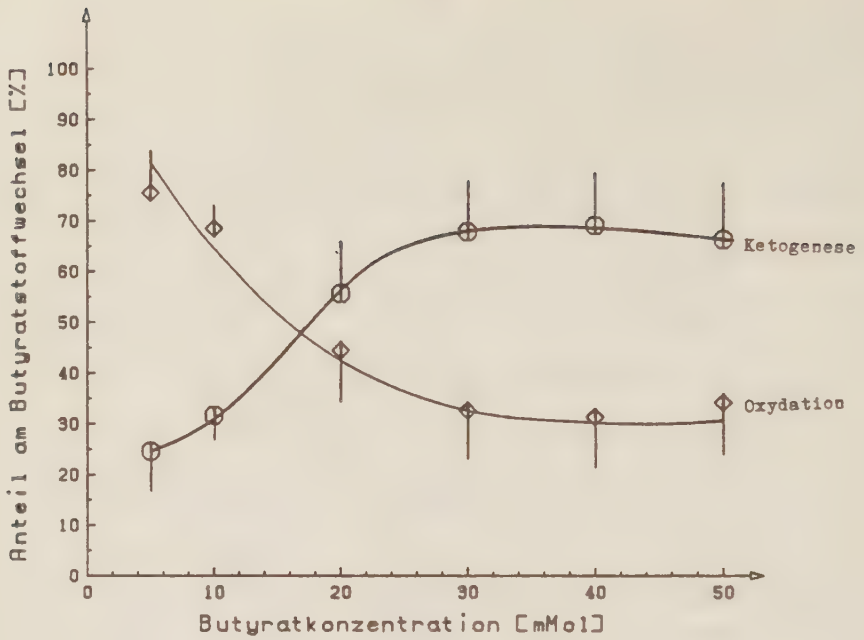


Abbildung 4

Der Einfluss der Butyratkonzentration auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels vom Rind ( n = 6 )

zentrationen mehr und mehr an Bedeutung (Ketogenese:Oxydation = 1,87).

Auch das Verhältnis BHB:AcAc steigt konzentrationsabhängig, da nur die Konzentration des BHB, nicht jedoch die des AcAc von Veränderungen der Butyratkonzentration betroffen wird. Das Pansenepithel reagiert nur in einer geringen Spanne empfindlich auf Konzentrationserhöhungen. Schon Konzentrationen, die noch im oberen physiologischen Grenzbereich liegen, bewirken keine nennenswerten Veränderungen mehr.

### 3.5. Der Einfluss der Glucose auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels von Rind und Schaf

Glucose beeinflusst den Butyratstoffwechsel bei Lämmern auch dann, wenn diese keine funktionellen Monogastrier sondern voll entwickelte Wiederkäuer sind. Deshalb lag es nahe, den Einfluss von Glucose auf die Ketogenese im Pansenepithel von erwachsenen Rindern und Schafen zu untersuchen. Dabei ergaben sich interessante tierartliche Unterschiede. Bei beiden Tierarten steigert Glucose die Ketogenese und hemmt die Butyratoxydation, jedoch in unterschiedlichem Ausmass.

Beim Rind zeigen sich erst bei der höchsten eingesetzten Konzentration deutliche Veränderungen der BHB-Konzentration (+37,5%) und der Butyratoxydation (-15,7). Die Bildung von AcAc bleibt selbst bei hohen Glucosekonzentrationen konstant (Tabelle 8).

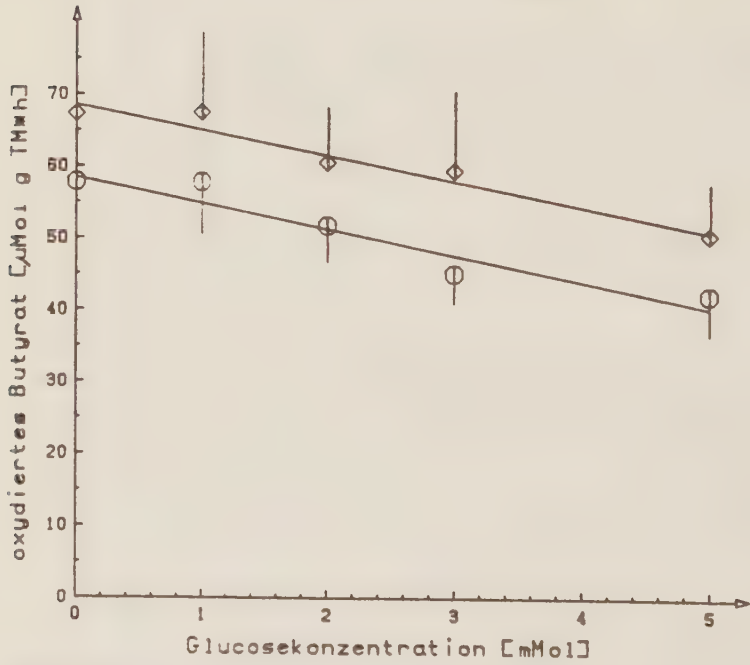
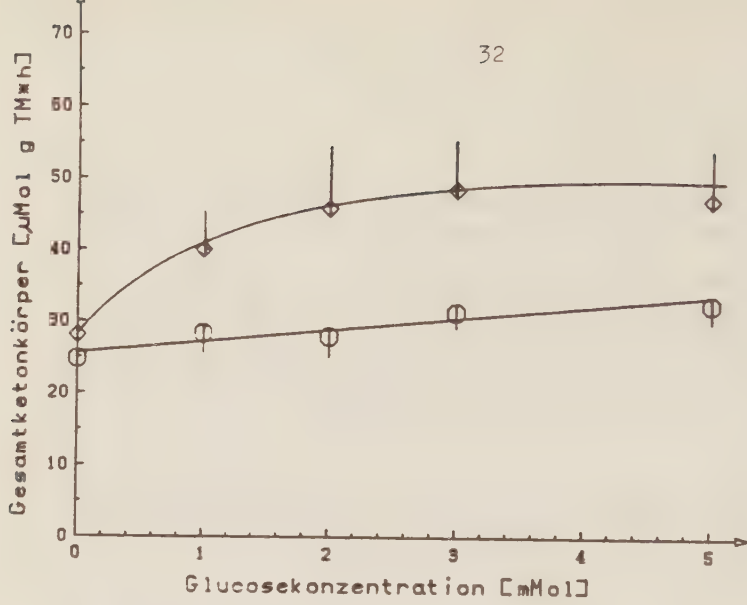


Abbildung 5

Der Einfluss der Glucosekonzentration auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels von Rind ○ und Schaf ◇  
( vgl. Tabelle 8 und 9 )

Tabelle 8

Der Einfluss von Glucose auf den Butyratstoffwechsel  
des Pansenepithels vom Rind (n = 6)

| Substrate |      | Ketogenese<br>Angaben in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrocken-<br>masse $\times b$ | Butyrateoxydation             |
|-----------|------|-------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| 10 mM     | BHB  | 19,9 $\pm$ 2,06                                                               |                               |
| Butyrat   | AcAc | 4,85 $\pm$ 1,4                                                                | 57,81 $\pm$ 9,96              |
| 10 mM     | BHB  | 22,28 $\pm$ 1,88                                                              |                               |
| Butyrat   | AcAc | 5,55 $\pm$ 2,01                                                               | 57,8 $\pm$ 7,6                |
| + 1 mM    |      |                                                                               |                               |
| Glucose   |      |                                                                               |                               |
| 10 mM     | BHB  | 23,31 $\pm$ 2,23                                                              |                               |
| Butyrat   | AcAc | 5,0 $\pm$ 1,64                                                                | 51,66 $\pm$ 5,12 <sup>+</sup> |
| + 2 mM    |      |                                                                               |                               |
| Glucose   |      |                                                                               |                               |
| 10 mM     | BHB  | 24,34 $\pm$ 1,57                                                              |                               |
| Butyrat   | AcAc | 5,13 $\pm$ 1,86                                                               | 45,0 $\pm$ 4,62 <sup>+</sup>  |
| + 3 mM    |      |                                                                               |                               |
| Glucose   |      |                                                                               |                               |
| 10 mM     | BHB  | 27,36 $\pm$ 3,6 <sup>+</sup>                                                  |                               |
| Butyrat   | AcAc | 4,99 $\pm$ 2,31                                                               | 48,75 $\pm$ 0,74 <sup>+</sup> |
| + 5 mM    |      |                                                                               |                               |
| Glucose   |      |                                                                               |                               |

+ : mit  $p < 0,05$  signifikante Unterschiede gegenüber dem  
dem Butyratwert

Das Pansenepithel von Schafen scheint in dieser Hinsicht weit "glucoseempfindlicher" zu sein (Tabelle 9). Schon bei einer Glucosekonzentration von 2 mM ist der Anstieg der BHB-Konzentration ausgeprägter als er beim Epithel des Rinderpensens bei 5 mM zu verzeichnen ist (+65,8% gegenüber +37,5%). Höhere Konzentrationen bringen nur noch wenig Zuwachs.

Die Konzentration des AcAc scheint bei mittleren Konzentrationen geringgradig anzusteigen und erreicht bei 5 mM Glucose wieder den Wert der 10 mM Butyratlösung. Abbildung 5 fasst das unterschiedliche Verhalten des Pansenepithels von Rind und Schaf zusammen.

Tabelle 9

Der Einfluss von Glucose auf den Butyratstoffwechsel  
des Pansenepithels vom Schaf ( $n = 6$ )

| Substrate         |      | Ketogenese<br>Angaben in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrocken-<br>masse $\times h$ | Butyratoxydation               |
|-------------------|------|-------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| 10 mM             | BHB  | 25,85 $\pm$ 4,45                                                              |                                |
| Butyrat           | AcAc | 2,21 $\pm$ 0,61                                                               | 67,31 $\pm$ 10,3               |
| 10 mM             | BHB  | 37,3 $\pm$ 6,21 <sup>+</sup>                                                  |                                |
| Butyrat<br>+ 1 mM | AcAc | 2,64 $\pm$ 0,51                                                               | 67,48 $\pm$ 10,96              |
| Glucose           |      |                                                                               |                                |
| 10 mM             | BHB  | 42,87 $\pm$ 8,58 <sup>+</sup>                                                 |                                |
| Butyrat<br>+ 2 mM | AcAc | 2,72 $\pm$ 0,62                                                               | 60,46 $\pm$ 7,61               |
| Glucose           |      |                                                                               |                                |
| 10 mM             | BHB  | 45,53 $\pm$ 6,57 <sup>+</sup>                                                 |                                |
| Butyrat<br>+ 3 mM | AcAc | 2,61 $\pm$ 0,65                                                               | 59,39 $\pm$ 10,63 <sup>+</sup> |
| Glucose           |      |                                                                               |                                |
| 10 mM             | BHB  | 44,78 $\pm$ 6,93 <sup>+</sup>                                                 |                                |
| Butyrat<br>+ 5 mM | AcAc | 1,92 $\pm$ 0,61                                                               | 50,45 $\pm$ 6,92 <sup>+</sup>  |
| Glucose           |      |                                                                               |                                |

+ : mit  $p < 0,05$  signifikante Unterschiede gegenüber dem Butyratwert

### 3.6. Die Wirkung anderer Hexosen auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels

In Anbetracht der vergleichbaren Wirkung von Glucose und Galaktose war die Frage von Bedeutung, inwieweit eine Strukturähnlichkeit der Zucker für den Effekt eine Bedeutung hat. Es wurde daher an Pansenepithel vom Rind der Einfluss weiterer Hexosen auf den Butyratstoffwechsel geprüft. Da AcAc in den vergangenen Versuchen von keinem der untersuchten Parametern beeinflusst wurde, wurden nur die Konzentration des BHB und die Butyratoxydation bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 festgehalten.

Tabelle 10

Der Einfluss verschiedener Zucker auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels vom Rind

| Substrate (mM)                           | Zu- bzw. Abnahme in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrocken-<br>masse $\times$ h. |           |            |       |     | Butyratoxydation |           |            |    |       |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|-----------|------------|-------|-----|------------------|-----------|------------|----|-------|
|                                          | Ketogenese                                                                |           |            |       |     |                  |           |            |    |       |
|                                          | n                                                                         | $\bar{x}$ | $\pm$      | SE    | p < | n                | $\bar{x}$ | $\pm$      | SE | p <   |
| Butyrat (10)                             | 30                                                                        | 22,77     | $\pm 1,58$ |       |     | 26               | 52,64     | $\pm 4,53$ |    |       |
| Butyrat (10)<br>+<br>Glucose (5)         | 30                                                                        | +13,97    | $\pm 1,92$ | 0,001 |     | 26               | - 6,23    | $\pm 1,13$ |    | 0,001 |
| Butyrat (10)<br>+<br>Mannose (5)         | 6                                                                         | +12,26    | $\pm 2,53$ | 0,05  |     | 6                | + 3,87    | $\pm 3,62$ |    | n.s.  |
| Butyrat (10)<br>+<br>Galaktose (5)       | 6                                                                         | +14,31    | $\pm 2,09$ | 0,05  |     | 6                | - 8,25    | $\pm 2,26$ |    | 0,05  |
| Butyrat (10)<br>+<br>Fructose (5)        | 7                                                                         | + 0,92    | $\pm 3,36$ | n.s.  |     | 7                | - 3,07    | $\pm 2,48$ |    | n.s.  |
| Butyrat (10)+<br>2-Deoxy-<br>Glucose (5) | 7                                                                         | + 2,49    | $\pm 0,68$ | 0,05  |     | 7                | + 0,68    | $\pm 3,59$ |    | n.s.  |
| Butyrat (10)+<br>-Methyl-<br>Glucose (5) | 6                                                                         | + 1,3     | $\pm 1,58$ | n.s.  |     | 6                | + 0,87    | $\pm 3,78$ |    | n.s.  |

Galaktose und Mannose als epimere Zucker verhalten sich ähnlich wie Glucose. Dabei treten erhebliche Unterschiede im Ausmass und der Signifikanz des Effektes auf.

Die beiden nicht metabolisierbaren Zucker 2-Deoxyglucose und  $\alpha$ -Methylglucose beeinflussen die Ketogenese nur geringgradig.

Bei der Fructose fallen die geringen Unterschiede bei enormer Streubreite auf. Die Wirkung der Fructose scheint mehr als die aller anderen Metabolite von noch unbekannten individuellen Eigenschaften des Epithels abzuhängen. Dafür spricht folgende Beobachtung: Die sieben Versuchstiere

lassen sich zwanglos in zwei Gruppen aufteilen. Bei der einen ( $n=4$ ) steigert Fructose sowohl Ketogenese als auch Oxydation ( $+6,72 \pm 3,22$  für BHB und  $+5,18 \pm 2,38$  für die Butyratoxydation), bei der anderen ( $n=3$ ) hemmt sie beide Stoffwechselwege ( $-6,81 \pm 2,39$  bzw.  $-6,84 \pm 1,24$ ).

Die in Tabelle 10 zusammengefassten Daten sprechen dafür, dass die Metabolisierung des Zuckers eine Voraussetzung für den ketogenen Effekt ist.

### 3.7. Die Wirkungen von Verbindungen des Intermediärstoffwechsels auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels

Die zuvor gezeigte Bedeutung der Metabolisierbarkeit warf die Frage auf, welche Rolle Metabolite von Glucose für deren ketogene Wirkung spielen.

Von den Glucose-Metaboliten Pyruvat und Lactat wurde erwartet, dass sie ähnlich wie Glucose wirken. Sie wurden in Konzentrationen eingesetzt, die in mM Kohlenstoff gerechnet mittleren Glucosekonzentrationen entsprechen.

Beide Substanzen verhalten sich gegensätzlich zu Glucose: Sie hemmen die Ketogenese und fördern die Butyratoxydation in unterschiedlichem Ausmass. Aus Tabelle 11 lässt sich eine gewisse Konzentrationsabhängigkeit des Effektes ablesen.

Malat entsteht physiologischerweise über das Malatenzym aus Pyruvat. Aus Malat wird im Mitochondrium durch Dehydrierung Oxalacetat gebildet; dieser Vorgang, Malat-shuttle genannt, ist für den Transport von Reduktionsäquivalenten in das Mitochondrium verantwortlich. In vitro bietet Malat die Möglichkeit, Reduktionsäquivalente ohne cytosolische Umwege in das Mitochondrium einzuschleusen.

Malat besitzt ähnliche Auswirkungen wie Glucose. Sie sind schon bei niederen Konzentrationen (2 mM) sehr ausgeprägt

Tabelle 11

Der Einfluss von Glucosemetaboliten auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels vom Rind

| Substrate (mM)                    | Zu- bzw. Abnahme in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrockenmasse $\times$ h. |           |            |      | Butyratoxydation |           |             |      |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------|------------|------|------------------|-----------|-------------|------|
|                                   | Ketogenese                                                           |           |            |      |                  |           |             |      |
|                                   | n                                                                    | $\bar{x}$ | $\pm$ SE   | p <  | n                | $\bar{x}$ | $\pm$ SE    | p <  |
| Butyrat (10)                      | 30                                                                   | 22,77     | $\pm 1,58$ |      | 26               | 52,64     | $\pm 4,53$  |      |
| Butyrat (10)<br>+<br>Lactat (4)   | 11                                                                   | - 6,8     | $\pm 2,11$ | 0,01 | 8                | + 2,05    | $\pm 2,09$  | n.s. |
| Butyrat (10)<br>+<br>Lactat (6)   | 6                                                                    | -11,39    | $\pm 4,1$  | 0,05 | 4                | +15,15    | $\pm 13,15$ | n.s. |
| Butyrat (10)<br>+<br>Pyruvat (4)  | 6                                                                    | - 4,06    | $\pm 1,19$ | 0,05 | 4                | +13,89    | $\pm 4,49$  | n.s. |
| Butyrat (10)<br>+<br>Pyruvat (6)  | 6                                                                    | - 4,24    | $\pm 1,09$ | 0,05 | 6                | +12,45    | $\pm 5,62$  | 0,05 |
| Butyrat (10)<br>+<br>Pyruvat (10) | 6                                                                    | -10,3     | $\pm 2,84$ | 0,05 | 6                | +21,28    | $\pm 5,32$  | 0,05 |

Tabelle 12

Der Einfluss von Metaboliten des Citratzyklus auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels vom Rind

| Substrate (mM)                    | Zu- bzw. Abnahme in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrockenmasse $\times$ h. |           |            |      | Butyratoxydation |           |            |      |
|-----------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-----------|------------|------|------------------|-----------|------------|------|
|                                   | Ketogenese                                                           |           |            |      |                  |           |            |      |
|                                   | n                                                                    | $\bar{x}$ | $\pm$ SE   | p <  | n                | $\bar{x}$ | $\pm$ SE   | p <  |
| Butyrat (10)                      | 30                                                                   | 22,77     | $\pm 1,58$ |      | 26               | 52,64     | $\pm 4,53$ |      |
| Butyrat (10)<br>+<br>Malat (2)    | 6                                                                    | + 5,87    | $\pm 1,22$ | 0,05 | 6                | - 2,58    | $\pm 2,09$ | n.s. |
| Butyrat (10)<br>+<br>Malat (5)    | 7                                                                    | +10,95    | $\pm 1,36$ | 0,01 | 7                | - 5,17    | $\pm 1,53$ | 0,01 |
| Butyrat (10)<br>+<br>Malat (10)   | 4                                                                    | +13,4     | $\pm 9,3$  | n.s. | 4                | - 0,73    | $\pm 1,6$  | n.s. |
| Butyrat (10)<br>+<br>Aspartat (5) | 6                                                                    | - 3,1     | $\pm 1,34$ | 0,05 | 6                | - 6,13    | $\pm 2,65$ | 0,05 |
| Butyrat (10)<br>+<br>Malonat (5)  | 6                                                                    | - 3,53    | $\pm 0,89$ | 0,05 | 6                | - 9,63    | $\pm 2,28$ | 0,05 |

und können mit Konzentrationen über 5 mM nicht weiter gesteigert werden.

Aspartat liefert wie Malat Oxalacetat, jedoch ohne dass dabei Reduktionsäquivalente frei werden. Es hemmt sowohl die Ketogenese als auch die Butyratoxydation.

Malonsäure als ein wirksamer Hemmer des Citratzyklus hemmt mit diesem die Butyratoxydation. Da über den Citratzyklus ein Grossteil der Reduktionsäquivalente gebildet werden, verarmt das Mitochondrium bei einer Blockade des Citratzyklus an Reduktionsäquivalenten. Daher wird auch die Ketogenese gehemmt. Die Tabelle 12 fasst die Ergebnisse mit den Metaboliten des Citratzyklus zusammen.

### 3.8. Der Einfluss von $\text{NH}_4^+$ -Ionen auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels und die Wechselwirkung zwischen $\text{NH}_4^+$ -Ionen und Glucose

Die bisherigen Ergebnisse lassen vermuten, dass die Lieferung von Reduktionsäquivalenten eine Rolle bei der Regulation der Ketogenese spielen. Darauf weist z.B. die ausgeprägte ketogene Wirkung von Malat (Tabelle 12) hin. Ein Entzug von Reduktionsäquivalenten sollte dann die Ketogeneserate senken.

Da  $\text{NH}_4^+$ -Ionen an der Glutamatdehydrogenase unter Verbrauch von mitochondrialem  $\alpha$ -Ketoglutarat und  $\text{NADH} + \text{H}^+$  zur Bildung von Glutamat führen, wurde versucht, über diese Reaktion intramitochondriale Reduktionsäquivalente abzuziehen und damit die Ketogenese aus Butyrat zu hemmen.

Wie die Werte in Tabelle 13 zeigen, hemmen  $\text{NH}_4^+$ -Ionen tatsächlich sehr stark die Ketogenese und fördern in ähnlichem Ausmass die Butyratoxydation.

Wenn somit die ketogene Wirkung der Glucose darauf beruht, dass Glucose Reduktionsäquivalente liefert, so muss diese Wirkung mindestens teilweise durch  $\text{NH}_4^+$ -Ionen aufgehoben werden können. Auch das ist der Fall: Bei niedrigen  $\text{NH}_4^+$ -

Ionen-Konzentrationen ist noch eine geringfügige Steigerung der Ketogenese möglich, bei höheren Konzentrationen überwiegt die antiketogene Wirkung der  $\text{NH}_4^+$ -Ionen. Bei der Butyratoxydation vermag schon die niedrigste Konzentration die Wirkung der Glucose aufzuheben (Tabelle 13).

Tabelle 13

Der Einfluss von  $\text{NH}_4^+$ -Ionen auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels vom Rind und ihre Wechselwirkung mit Glucose

| Substrate (mM)                                         | Zu- bzw Abnahme in $\mu\text{Mol/g}$ Gewebetrockenmasse $\times$ h |           |            |       |  | Butyratoxydation |           |             |       |  |
|--------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------|------------|-------|--|------------------|-----------|-------------|-------|--|
|                                                        | Ketogenese                                                         |           |            |       |  |                  |           |             |       |  |
|                                                        | n                                                                  | $\bar{x}$ | $\pm$ SE   | p <   |  | n                | $\bar{x}$ | $\pm$ SE    | p <   |  |
| Butyrat (10)                                           | 30                                                                 | 22,77     | $\pm 1,58$ |       |  | 26               | 52,64     | $\pm 4,53$  |       |  |
| Butyrat (10)+<br>$\text{NH}_4^+$ (10)                  | 5                                                                  | -19,65    | $\pm 7,19$ | n.s.  |  | 5                | - 5,74    | $\pm 16,47$ | n.s.  |  |
| Butyrat (10)+<br>$\text{NH}_4^+$ (30)                  | 10                                                                 | -11,98    | $\pm 1,93$ | 0,001 |  | 10               | +10,37    | $\pm 2,6$   | 0,001 |  |
| Butyrat (10)+<br>$\text{NH}_4^+$ (5) +<br>Glucose (5)  | 7                                                                  | + 1,23    | $\pm 2,49$ | n.s.  |  | 7                | +10,10    | $\pm 2,76$  | 0,05  |  |
| Butyrat (10)+<br>$\text{NH}_4^+$ (30) +<br>Glucose (5) | 4                                                                  | - 1,28    | $\pm 1,29$ | n.s.  |  | 4                | +11,76    | $\pm 5,43$  | n.s.  |  |

Die Abbildung 6 fasst die Wirkungen der untersuchten Substanzen zusammen. Dabei wird besonders deutlich, dass ein Anstieg der Ketogenese in der Regel mit einem Abfall der Oxydation verbunden ist. Die insgesamt metabolisierte Butyratmenge bleibt dadurch verhältnismässig konstant.

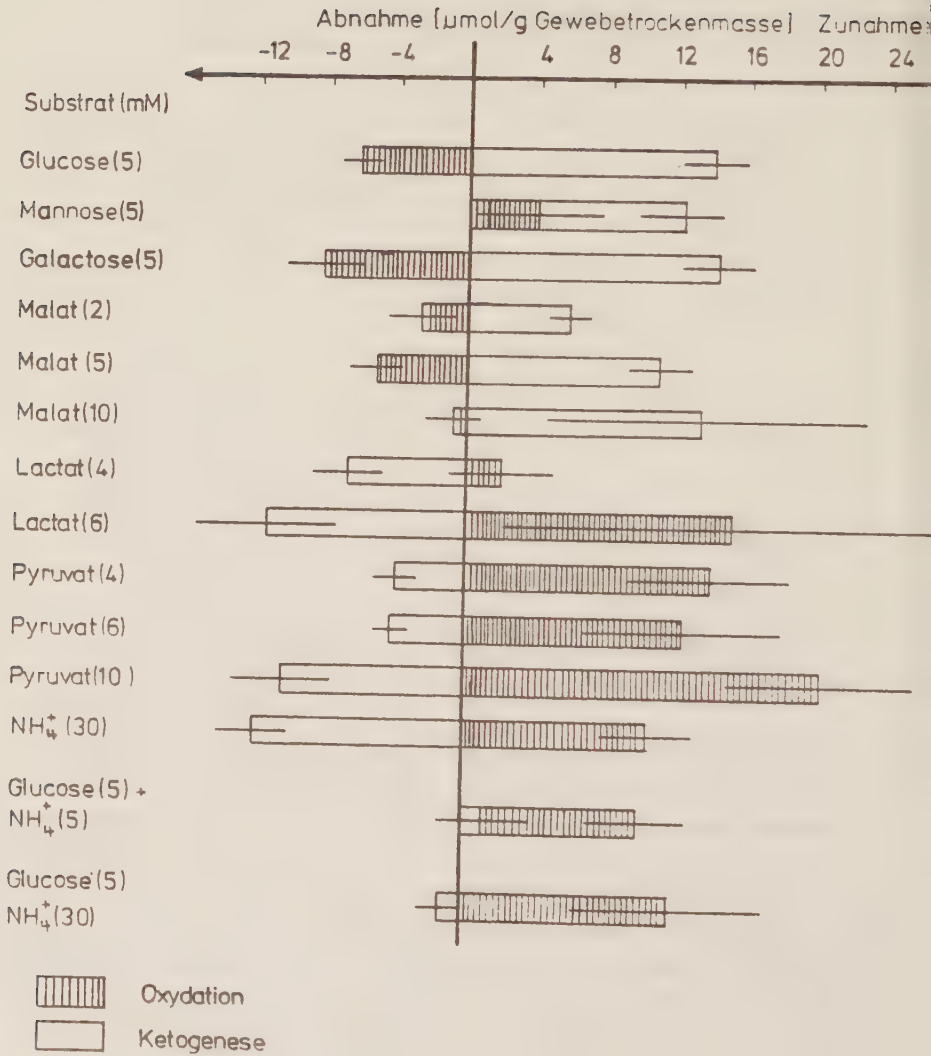


Abbildung 6

Der Einfluss verschiedener Zucker und Metabolite auf den Butyratstoffwechsel des Pansenepithels  
(vgl. Tabelle 11-13)

### 3.9. Die Wirkung der Glucose auf die Ketogenese aus Isovalerianat

Isovalerianat ist ebenso wie Butyrat eine ketogene Vorstufe aus dem normalen Pansenstoffwechsel. Es fällt aber in viel geringeren Konzentrationen an und wird überwiegend zu AcAc umgesetzt. Damit erschien es besonders geeignet, die Lieferung von Reduktionsäquivalenten durch Glucose, die dann zu einem Anstieg des BHB führen muss, zu untersuchen. Die Konzentration des Isovalerianats wurde so gewählt, dass ähnliche Mengen an Ketonkörpern gebildet wurden wie bei 10 mM Butyrat.

Tabelle 14

Die Ketogenese aus Isovalerianat im Vergleich zur Ketogenese aus Butyrat

| Substrate<br>(mM)                  | Ketogenese ( $\mu\text{Mol/g Gewebetrockenmasse} \times \text{h}$ ) |                  |          |
|------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|------------------|----------|
|                                    | BHB                                                                 | AcAc             | BHB:AcAc |
| Isovalerianat (5)                  | 4,31 $\pm$ 0,91                                                     | 22,76 $\pm$ 1,71 | 0,19     |
| Isovalerianat (5)<br>+ Glucose (5) | 10,75 $\pm$ 1,12                                                    | 20,37 $\pm$ 2,12 | 0,53     |
| Differenz durch<br>Glucose         | +149% <sup>+</sup>                                                  | -11%             | -        |
| Butyrat (10)                       | 23,09 $\pm$ 2,97                                                    | 2,63 $\pm$ 0,75  | 8,78     |
| Butyrat (10)<br>+ Glucose (5)      | 34,34 $\pm$ 3,71                                                    | 2,68 $\pm$ 0,88  | 12,8     |
| Differenz durch<br>Glucose         | +49% <sup>+</sup>                                                   | $\pm$ 0          | -        |

+ : mit  $p < 0,05$  signifikante Unterschiede gegenüber dem Butyrat- bzw. Isovalerianatwert

Wie Tabelle 14 zeigt, wirkt Glucose auch hier ketogen. Während die Konzentration des AcAc sich kaum verändert, steigt die Konzentration des BHB um 150%. Dieser Zuwachs ist relativ gesehen dreimal so gross wie der bei der Ketogenese aus Butyrat erzielte.

Die Ergebnisse dieses Experiments belegen, dass der ketogene Effekt der Glucose nicht für die Ketogenese aus Butyrat spezifisch ist. Die Wirkungsweise über Reduktionsäquivalente macht dies erklärlich.

### 3.10 Der Einbau von Glucosekohlenstoff in Ketonkörper

Obwohl die bisher dargelegten Ergebnisse sehr eindeutig dafür sprechen, dass Reduktionsäquivalente aus Glucose für die ketogene Wirkung verantwortlich sind, blieb der Beweis zu führen, dass Glucosemetabolite nicht selbst in Ketonkörper umgesetzt werden. Hierzu wurde ein Versuch mit U- $^{14}\text{C}$ -Glucose durchgeführt.

Pansenepithel wurde in 10mM Butyrat-Pufferlösung inkubiert, in der 5 mMol/l hochmarkierte Glucose gelöst waren. In den Ketonkörpern, die nach der eingangs beschriebenen Methode isoliert worden waren, wurden nur Spuren der Aktivität wiedergefunden ( $< 0,1\%$ ). Auch die Erhöhung der eingesetzten Aktivität auf 2 Mio IPM pro Ansatz brachte keine höhere Markierung der Ketonkörper (vgl. Tabelle 15).

Glucosekohlenstoff wird demnach nicht in Ketonkörper eingebaut.

Tabelle 15

Der Einbau von  $^{14}\text{C}$ -Glucosekohlenstoff in Ketonkörper (KK) und andere organische Säuren (OS)

| eingesetzte Aktivität<br>(IPM) | Rind<br>Nr. | wiedergefundene Aktivität<br>(IPM) |       |
|--------------------------------|-------------|------------------------------------|-------|
|                                |             | in KK + OS                         | in OS |
| 1028927                        | 1           | 101,5                              | 107,1 |
|                                | 2           | 0,9                                | 2,9   |
| 1978021                        | 3           | 1,5                                | -     |
|                                | 4           | 33,9                               | 34,9  |
|                                | 5           | 51,4                               | 47,4  |

### 3.11. Versuche mit perfundiertem Pansenepithel

Die bisher durchgeführten Versuche mit im Substrat-Puffer-Medium suspendierten Epithelschnitten mögen dem Einwand begegnen, dass hier mucöse und seröse Seite des Epithels Substrat aufnehmen konnten, während das für Bedingungen in vivo infolge der Glucosefermentation im Pansen nur für die seröse Seite zutrifft.

Die eingangs erwähnte Perfusionskammer bietet die Möglichkeit, Glucose nur von der serösen Seite her zuzuführen, allerdings mit der Einschränkung, dass das bisher verwendete Epithel vom ventralen Pansensack wegen seiner kräftigen Zotten nicht in die Kammer passt. Daher wurde Epithel vom Pansenpfeiler vorgezogen.

Obwohl die Aktivität des Pfeilerepithels deutlich unter der des Epithels vom ventralen Pansensack lag, hatte Glucose einen deutlichen ketogenen Effekt.

In der Kammer inkubiertes Epithel unterschied sich, wie aus Tabelle 16 ersichtlich, nur wenig von Epithel gleicher Herkunft, das auf herkömmliche Weise inkubiert wurde.

Tabelle 16

Der Einfluss der Herkunft des Epithels und der Inkubationstechnik auf die Ketogenese im Pansenepithel des Rindes (n = 6)

| Herkunft des Epithels<br>Inkubationstechnik | ventr. Blindsack                                         | Pansenpfeiler       |                     |
|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------|---------------------|---------------------|
|                                             | suspendiert                                              | perfundiert         | suspendiert         |
| Substrate                                   | $\mu\text{Mol BHB/g Gewebetrockenmasse} \times \text{h}$ |                     |                     |
| 10 mM Butyrat                               | 23,09 $\pm$ 2,97                                         | 2,75 $\pm$ 1,07     | 2,97 $\pm$ 0,43     |
| 10 mM Butyrat +<br>5 mM Glucose             | 34,34 $\pm$ 3,71                                         | 4,55 $\pm$ 1,37     | 4,41 $\pm$ 1,05     |
| Differenz                                   | +48,7% <sup>+</sup>                                      | +65,5% <sup>+</sup> | +48,5% <sup>+</sup> |

+ : mit  $p < 0,05$  signifikante Unterschiede gegenüber dem Butyratwert

## 4. Diskussion

### 4.1. Die Abhängigkeit des Butyratstoffwechsels vom Alter der Tiere

Selbst für sehr junge Wiederkäuer ist Butyrat keine unbekannte Verbindung. Während der intrauterinen Entwicklung gelangt soviel Butyrat in den fetalen Kreislauf, dass das Pansenepithel neugeborener Lämmer deutlich besser ausgebildete Zotten besitzt als das von zwei Wochen alten Tieren (Tamate et al., 1962).

Daher ist es nicht verwunderlich, dass das Epithel von wenigen Tagen alten Tieren Butyrat bereits in erheblichen Mengen umsetzt. Die Zugabe von Butyrat steigert die  $O_2$ -Aufnahme des Epithels bei Milchlämmern um 50%, bei ausgewachsenen Tieren um 83% (Giesecke et al., 1978).

Während der postnatalen Entwicklung bleibt der Anteil des pro Zeit- und Gewichtseinheit oxydierten Butyrats zwar gleich, aber die Ketogeneserate steigt auf mehr als das Fünffache an. Dieser Zuwachs steht in keinem Verhältnis zur Steigerung des  $O_2$ -Verbrauchs. Das scheinbare Missverhältnis lässt sich dadurch erklären, dass die Ketogenese kaum Reduktionsäquivalente liefert und somit auch sehr wenig  $O_2$  verbraucht.

Von vielen Autoren wurde der rapide Anstieg der Ketogenesefähigkeit während der funktionellen Entwicklung des Pansenepithels beschrieben (Walker und Simmonds, 1962; Hird und Weidemann, 1964). Über den Einfluss des Alters bei künstlich unentwickelt gehaltenem Epithel ist weit weniger bekannt. Wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, entwickelt sich die Fähigkeit zur Ketogenese auch bei vier bis neun Wochen auf reiner Milchnahrung gehaltenen Lämmern. Ihr unentwickeltes Epithel produziert jedoch 50% weniger Ketonkörper als das entwickelte (vgl. Tabelle 3). Dadurch werden frühere Ergebnisse von Hird und Weidemann (1964) bestätigt.

Diese Ergebnisse mögen nun folgendem Einwand begegnen: Ältere Tiere, die ihren gesamten Energiebedarf über Milch decken müssen, sind gezwungen, unphysiologisch grosse Mengen an Milch aufzunehmen. Dadurch könnte unter Umständen Milch vom Labmagen in den Pansen zurückfliessen und dort vergoren werden (Trautmann, 1933).

Wird die gesamte Milchration in den Pansen gegeben, so fördert das die Pansenentwicklung erheblich (Tamate et al., 1962). Bei ein- bis dreitägigen Kälbern ist die Aktivität der Ketogeneseenzyme sehr gering, doch genügen schon physiologische Milchmengen im Pansen, die Bildung dieser Enzyme im Pansenepithel anzuregen (DeLahunta, 1965). Beobachtungen von Sutton und Mitarbeitern (1963) unterstützen diese Vorstellung. In ihren Versuchen waren Epithelien dreier Milchkälber sehr wenig ketogeneseaktiv, sie bildeten nur 4% der Ketonkörper von Heu-Kraftfutter-Tieren. Ein Milchkalb passte trotz ähnlichen Alters nicht in dieses Kollektiv, sein Pansenepithel bildete 26% der Ketonkörper von Heu-Kraftfutter-Tieren. Bei diesem Tier war ein beträchtlicher Milchreflux in den Pansen und die mikrobielle Vergärung dieser Milch nachweisbar.

In eigenen Versuchen wurden weder ein nennenswerter Milchreflux noch ein fauliger Geruch des Panseninhalts beobachtet. Auch eine geringfügige Weiterentwicklung des Pansenepithels infolge eines bei der Entnahme übersehenen Milchrefluxes hätte sich in einer Erhöhung des Epithelflächengewichtes bemerkbar gemacht. Die Streuungen zwischen den einzelnen Tieren waren bei Milch- und Heu-Kraftfutter-Lämmern erstaunlich gering (Giesecke et al., 1978).

Dies deutet darauf hin, dass die Ernährung über die Lämmerbar durch die kontinuierliche Fütterung die Aufnahme zu grosser Milchmengen und damit einen Rückfluss der Milch weitgehend verhindern kann.

Dennoch kann eine Entwicklung der Ketogeneseenzyme ohne sichtbare Entwicklung des Pansenepithels nicht ausgeschlossen werden.

#### 4.2. Die Regulation der Ketogenese im Pansenepithel im Vergleich zur Leber

In der Leber stellt die Ketogenese einen Nebenweg des Fettsäurestoffwechsels dar, der nur bei Glucosemangel beschritten wird. Unter diesen Umständen bestimmt Glucagon den Leberstoffwechsel.

Sein Einfluss hemmt die Glykolyse und die Synthese des Malonyl-CoA, der Ausgangssubstanz der Fettsäuresynthese (McGarry et al., 1978; Anonymus, 1979). Durch das Fehlen des Malonyl-CoA entfällt die Hemmung der Carnitin-Acyltransferase (E.C.2.3.1.21; McGarry et al., 1978), gleichzeitig steigt die Carnitinkonzentration in der einzelnen Leberzelle (Brass et al., 1978) und die Aktivität der Carnitin-Acylcarnitin-Translocase in der Mitochondrienmembran (Parvin et al., 1979).

Dies alles erleichtert den Transport von langkettigen Fettsäuren in das Mitochondrium, die dann der Oxydation und der Ketogenese als Substrat zur Verfügung stehen. Der Transport von mittel- und kurzkettigen Fettsäuren ist unabhängig vom Carnitinsystem und wird durch Fasten oder Glucagongaben nicht verändert (Zammit, 1980).

Das Angebot von intramitochondrialem Oxalacetat und der Redoxstatus der Zelle bestimmen, wie die Fettsäuren sich auf Oxydation und Ketogenese verteilen.

Bei Glucosemangel wird vermehrt Gluconeogenese betrieben, die dem Citratzyklus Oxalacetat entzieht. Dadurch kann weniger Acetyl-CoA oxydiert werden und fließt vermehrt der Ketogenese zu. Die Zufuhr von glucoplastischen Verbindungen wie Alanin, Aspartat und Pyruvat senken die Ketogeneserate deutlich (Nosadini et al., 1980).

Aber auch bei massivem Oxalacetatmangel käme die Ketogenese bald zum Erliegen, wenn AcAc-CoA nicht aus dem Mitochondrium entfernt würde. Es beschränkt nämlich durch die Hemmung der AcAc-CoA-Thiolase (E.C.2.3.1.9.) und der HMG-CoA-Synthetase (E.C.4.1.3.5.) seine eigene Entstehung (Reed

et al., 1975; Huth et al., 1978). Durch Abspalten des CoA-Restes wird AcAc-CoA dem Gleichgewicht entzogen. Dies geschieht in der Leber hauptsächlich über den HMG-CoA-Weg. Unter ketotischen Bedingungen ist seine Aktivität erhöht (Mulder et al., 1977; Zammit, 1981).

Im Gegensatz zur hepatischen Ketogenese ist die ruminale Ketogenese primär, also nicht durch Glucosemangel bedingt, und mit der Butyratoxydation die wichtigste Stoffwechselleistung des Epithels. Da auch die Gluconeogenese im Pansenepithel keine Rolle spielt (Young et al., 1969), verhält sich das Pansenepithel ähnlich wie die ketotische, in der Gluconeogenese gehemmte Leber eines Monogastriers.

Da vor allem kurzkettige Fettsäuren als Substrate anfallen, sind Ketogenese und Oxydation unabhängig vom Carnitinsystem und damit wohl auch weitgehend unabhängig von Hormonen. Die Aktivität der Ketogeneseschlüsselenzyme wird im Gegensatz zur Leber von der Stoffwechsellage des Tieres nicht berührt (DeLahunta, 1965).

Im Pansenepithel beschränkt sich die Regulation des Butyratstoffwechsels auf die Verteilung des Butyrats auf Oxydation und Ketogenese.

Das insgesamt umgesetzte Butyrat bleibt dabei auffallend konstant: Der Anstieg in der Ketogenese und der Abfall in der Oxydation heben sich in vielen Versuchen auf (vgl. Tabelle 9-12).

Im Gegensatz zur Leber wird AcAc-CoA als die Schlüsselsubstanz des Butyratstoffwechsels angesehen, da Butyrat zum Grossteil ungespalten in Ketonkörper übergeführt wird (vgl. Tabelle 2). Dennoch scheint die Regulation an den gleichen Stellen wie in der Leber anzugreifen, und zwar

1. beim Eintritt des Acetyl-CoA in den Citratzyklus und
2. bei der Freisetzung von AcAc und dessen Umwandlung in BHB.

Die Bedeutung des intramitochondrialen Oxalacetats ist im Pansenepithel weniger klar als in der Leber.

Oxalacetat liefernde Substanzen verhalten sich uneinheitlich. Das Oxalacetat scheint für den Fluss durch den Citratzyklus nie so begrenzend zu sein wie in der Leber, was bei dem Fehlen der Gluconeogenese und der hohen Aktivität des Malatenzyms einleuchtet.

Nur wenn mit dem Oxalacetat wie beim Pyruvat nicht gleichzeitig Reduktionsäquivalente in das Mitochondrium gelangen, kann sich der geringe Einfluss auf den Citratzyklus bemerkbar machen. Pyruvat wirkt oxydationsfördernd und antiketogen. Schon die Lieferung von einem Paar Reduktionsäquivalente (Lactat) vermag diesen Effekt empfindlich zu stören. Die metabolisierbaren Zucker, vor allem aber Malat, wirken ketogen und oxydationshemmend, bei ihnen überwiegt der Einfluss der Reduktionsäquivalente (vgl. Tabelle 10-12).

In Versuchen dieser Arbeit konnte die Bedeutung der Reduktionsäquivalente für die Regulation des Butyratstoffwechsels bewiesen werden (vgl. Tabelle 10-14).

Als Barriere des Körpers gegen das stark reduzierende Pansenmilieu ist das Pansenepithel hervorragend für die Verwertung von Reduktionsäquivalenten eingerichtet, was sich im hohen Gehalt an Oxydoreduktasen und im wesentlich höheren Reduktionsgrad gegenüber der nicht ketotischen Leber (BHB:AcAc=15,1 gegenüber 8,2 in der Leber; Bush et al., 1970) widerspiegelt.

Von Substanzen, die Reduktionsäquivalente liefern, sind Glucose und Galaktose am besten untersucht. Schon in der Literatur finden sich einige Hinweise. Hird und Weidemann (1964) berichten von einer leichten Erhöhung der Gesamtketonkörper bei jungen Lämmern durch Glucose, Goosen (1976) dagegen nur von einer Verschiebung des Ketonkörperverhältnisses zugunsten des BHB. Der fehlende ketogene Effekt könnte in dieser Arbeit auf die unphysiologisch hohe Glucosekonzentration ( $30 \text{ mM} \approx 540 \text{ mg/100ml}$ ) zurückzuführen sein.

In eigenen Versuchen bewirkten Glucose und Galaktose einen

bedeutenden Anstieg der Ketonkörper. Sie wurden beide in etwa gleichem Umfang oxydiert und lieferten dadurch Reduktionsäquivalente. Der Zuwachs der Ketonkörper steht jedoch in keiner direkten Abhängigkeit zur Menge an oxydiertem Zucker. Galaktose hat einen geringeren Einfluss auf die Ketogenese, obwohl etwas mehr Galaktosekohlenstoff oxydiert wird (vgl. Tabelle 4 und 6).

Der gleichzeitige Abfall der Butyratoxydation lässt sich nicht mit der Energie erklären, die durch die Oxydation der Zucker entsteht, wohl aber mit der Tatsache, dass die Menge des metabolisierten Butyrats konstant gehalten wird.

Glucosekohlenstoff selbst wird nicht in Ketonkörper eingebaut. Dies ist auch für alle die Metabolite anzunehmen, die zu Acetyl-CoA abgebaut werden, da der Acetyl-CoA-Pool nicht nennenswert an der Ketogenese teilnimmt (Hird und Symons, 1961).

Das steht in scheinbarem Widerspruch zu Ergebnissen von Pennington und Sutherland (1956), die eine deutliche Ketogenese aus Pyruvat beobachteten. Sie konnten jedoch nicht nachweisen, ob die Zunahme durch den Einbau von Pyruvatkohlenstoff in Ketonkörper erfolgte. Das Pyruvat könnte auch selbst oxydiert werden und dadurch den endogenen AcAc-CoA-Pool für die Ketogenese freistellen.

Für die Regulation des Butyratstoffwechsels scheinen sowohl intra- als auch extramitochondriale Reduktionsäquivalente wichtig zu sein. Der Austausch zwischen den beiden Kompartimenten erfolgt über den Malat-shuttle. Die Enzyme, die hierfür benötigt werden, sind im Pansenepithel reichlich vorhanden (DeLahunta, 1965; Young et al., 1969). Dieser Austausch vermag auch teilweise die Unterschiede zwischen Glucose und ihren Metaboliten zu erklären.

Glucose unterscheidet sich von Lactat und Pyruvat nur in den extramitochondrialen Reduktionsäquivalenten, von denen Pyruvat keines, Lactat ein und Glucose vier Paar liefert.

Diese werden über den Malat-shuttle in die Mitochondrien transportiert, dort erst können sie ihre Wirkung entfalten. Sie reduzieren AcAc zu BHB und verhindern so, dass sich das AcAc, das als Ketosäure nur schlecht membrangängig ist, zu sehr in der Zelle anhäuft und dadurch seine eigene Entstehung hemmt.

Zwei Beobachtungen lassen die intramitochondrialen Reduktionsäquivalente so wichtig erscheinen: 1. Der Effekt der Glucose lässt sich durch  $\text{NH}_4^+$ -Ionen aufheben, die nur im Mitochondrium angreifen. 2. Malat, dessen Reduktionsäquivalente den Umweg über den Malat-shuttle nicht nötig haben, wirkt bei gleichen molaren Konzentrationen fast ebenso stark wie Glucose, obwohl es nur halbsoviele Reduktionsäquivalente liefert (vgl. Tabelle 10 und 12).

Bei Lactat und Pyruvat tritt mehr der Einfluss auf den Citratzyklus in den Vordergrund.

Die Lactatwirkung ist insofern etwas schwierig zu interpretieren, als DL-Lactat verwendet wurde. D-Lactat wird jedoch vom Pansenepithel nur in geringen Mengen utillisiert und hat auch keinen Einfluss auf die Ketonkörperproduktion (Prins et al., 1974).

Unter Umständen könnten auch die extramitochondrialen Reduktionsäquivalente wichtig sein. Von einigen Autoren wird nämlich die Existenz einer cytosolischen BHB-Dehydrogenase gefordert (Koundakjian und Snoswell, 1970; Watson und Lindsay, 1972), ihre physiologische Bedeutung ist jedoch umstritten (Williamson und Kuenzel, 1971; Koundakjian und Snoswell, 1972). Sollte sie wirklich existieren, so könnte AcAc, das im Mitochondrium der Reduktion entgangen ist, im Cytosol reduziert werden.

Die qualitativen und quantitativen Unterschiede in der Wirkungsweise der untersuchten Zucker liessen den Verdacht aufkommen, dass neben den Reduktionsäquivalenten noch andere Mechanismen an der Regulation des Butyratstoffwechsels beteiligt sind. Die Aldosen Glucose, Galaktose und Mannose wirken alle ketogen und oxydationshemmend, wobei der

geringe Effekt der Mannose bei der Butyratoxydation auffällt. Fructose jedoch, von der anzunehmen ist, dass sie ähnlich wie Glucose metabolisiert wird, zeitigt keinen eindeutigen Effekt. Dieser ist vielmehr von unbekannten Eigenschaften des Spendertieres abhängig (vgl. Tabelle 10). Auch wirken die Abbauprodukte der Glucose, Pyruvat und Lactat, genau gegensätzlich wie Glucose selbst (vgl. Tabelle 11).

Das alles spricht für eine Beeinflussung von Schlüsselenzymen des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels. Der Zucker muss, um wirksam zu sein, anscheinend in der Aldehydform vorliegen. Auch die C<sub>2</sub>-Position könnte von einer gewissen Bedeutung sein, da Glucose und Galaktose eindeutiger wirken als Mannose.

Versuche mit nicht metabolisierbaren Zuckern konnten die Zusammenhänge nicht eindeutig klären.  $\alpha$ -Methyl-Glucose bewirkte keine signifikanten Veränderungen, während 2-Deoxy-Glucose die Ketogenese ein wenig anzuheben scheint. Ihre Wirkung ist jedoch keineswegs der der metabolisierbaren Zucker vergleichbar.

Trotzdem ist die Möglichkeit, dass die Zucker Enzyme beeinflussen, nicht von der Hand zu weisen. Dieser Mechanismus gäbe eine zweite Erklärung ab für die unterschiedliche Wirkungsweise von Glucose und ihren Metaboliten.

#### 4.3. Die Bedeutung des Pansenepithels für den Butyratstoffwechsel des Wiederkäuers

Butyrat gilt für den Wiederkäuer keineswegs als eine "harmlose" Verbindung, auch wenn sein Einfluss auf den Intermediärstoffwechsel unter Bedingungen in vivo noch nicht voll geklärt ist (Stern et al., 1970; Metz und van den Bergh, 1972). Gelangt es ins Pfortaderblut, so wird es

in der Leber grösstenteils in Ketonkörper umgewandelt. Da der Leber die BHB-Dehydrogenase fast völlig fehlt (vgl. 1.2.) fällt vor allem AcAc an. Häuft sich AcAc in den Mitochondrien der Leberzelle an, so wird es als starke Säure (vgl. 1.3.4.2.) den Mitochondrienstoffwechsel empfindlich stören, da viele Reaktionen (z.B. Phosphorylierungen) bei niedrigem pH nur schwer ablaufen. Dies ist einer der Gründe für die degenerative Verfettung der Leber während ketotischer Zustände.

Überdies ist AcAc instabil und zerfällt bei Körpertemperatur zu etwa 5% pro Stunde in Aceton und  $\text{CO}_2$ . Aceton aber ist neurotoxisch und wirkt halluzinogen (Philips, 1978) und narkotisch (Bergman, 1971). Seine Neurotoxizität kommt der des Methanols gleich (Sollmann, 1948).

Je mehr Butyrat schon im Pansenepithel umgesetzt wird, desto vorteilhafter ist dies für den gesamten Organismus. Zum ersten wird Butyrat in das besser lösliche BHB übergeführt. Dieses dient als Substrat für periphere Gewebe. Zum zweiten gelangt nur ein geringer Teil des Butyrats ins Pfortaderblut und damit in die Leber. Dadurch wird die Leber entlastet, die gerade durch ihre enorme Gluconeogeneseleistung besonders beansprucht ist.

Die Aktivität des Pansenepithels, wie sie bei Versuchen in vitro erreicht wird, würde allerdings nur dazu ausreichen, einen geringen Teil des anfallenden Butyrats umzusetzen. Dies verdeutlicht folgende Überschlagsrechnung:

Das Pansenepithel eines 50 kg schweren Schafes wiegt 380 g (Weekes, 1971), was einem Trockengewicht von etwa 80 g entspricht. Pansenepithel vom Schaf metabolisierte  $95 \mu\text{Mol}$  Butyrat/g Gewebetrockenmasse  $\times h$ . Das bedeutet auf Tier und Tag umgerechnet  $0,18 \text{ Mol}$  Butyrat. Ein 50 kg schweres Schaf nimmt etwa 1 kg Futtertrockenmasse auf und bildet daraus 4,5–6 Mol flüchtige Fettsäuren (Bergman et al., 1965; Weston und Hogan, 1968). Davon entfallen etwa  $0,6 \text{ Mol}$  auf Butyrat. Erst bei einem Umsatz von  $300 \mu\text{Mol/g}$  Gewebetrockenmasse  $\times h$  könnte diese Menge vollständig im Pan-

senepithel metabolisiert werden.

Die niedrigen Butyratwerte im Pfortaderblut (5-30  $\mu\text{Mol/l}$ ; Hodson et al., 1965; Metz et al., 1974) lassen jedoch darauf schliessen, dass die Kapazität des Pansenepithels in vivo höher als in vitro liegt. Bei Versuchen in vitro scheint das AcAc, das sich während der Inkubationszeit anhäuft, auszureichen, seine eigene Entstehung zu hemmen.

Wie die ketotische Leber ist das Pansenepithel mit Reduktionsäquivalenten bereits überversorgt. Eine vollständige Oxydation des gesamten Butyrats ist dadurch ausgeschlossen. Es bleibt die Ketogenese als einzige Möglichkeit, Butyrat in grossen Mengen zu metabolisieren, ohne dass nennenswerte Mengen an Reduktionsäquivalenten entstehen. Über das Verhältnis Ketogenese:Oxydation können die entstehenden Reduktionsäquivalente und deren Verbrauch im Pansenepithel selbst reguliert werden. Dadurch stellt das Pansenepithel eine metabolische Verbindung zwischen dem Pansenmilieu und dem Organismus her. Dem Pansenepithel stehen aus dem Pansenmilieu reichlich reduzierte Substrate zur Verfügung. Es deckt aus ihnen seinen Bedarf an  $\text{NADH}_2$  und damit an Energie. Überschüssige Reduktionsäquivalente werden in Form von BHB an extrahepatische Gewebe abgegeben. Diese können dafür andere energiereiche Substrate wie Glucose einsparen und damit eine Entlastung der Leber bewirken.

Die mögliche insulinogene und die bewiesene antilipolytische Wirkung des BHB (Metz et al., 1974) deuten auf einen solchen Sparmechanismus hin.

Eine weitere Bedeutung kommt dem Pansenepithel während ketotischer Zustände zu. Obwohl die Leber fast ausschliesslich AcAc ausschüttet, bleibt das Verhältnis BHB:AcAc bis zu einer Ketonkörperkonzentration von 1,1  $\text{mMol/l}$  (Baird et al., 1972) bzw. 2  $\text{mMol/l}$  (Bergman et al., 1965; Kosak, 1980) im Blut unverändert. Erst bei höheren Konzentrationen nimmt das AcAc stärker zu als das BHB und das Verhältnis

kehrt sich um.

Dieses Phänomen ist zum Teil einer "Entgiftung" des AcAc durch das Pansenepithel zuzuschreiben. In der Leber gebildetes AcAc gelangt über das Blut ins Pansenepithel und wird dort in BHB umgewandelt.

Gerade unter Bedingungen verringerter Pansenfermentation (z.B. bei Inappetenz infolge einer schmerzhaften Erkrankung) kann dieser Mechanismus besonders zum Tragen kommen. Dann nämlich entsteht nur wenig Butyrat im Pansen, folglich wird nur wenig AcAc im Pansenepithel selbst gebildet und die ganze Kapazität der BHB-Dehydrogenase im Pansenepithel steht für die Reduktion von hepatischem AcAc zur Verfügung. Es ist vorstellbar, dass dabei Reduktionsäquivalente aus Glucose eine besondere Rolle spielen.

Dagegen dürfte die Bedeutung des Glucoseeffekts für das gesunde Tier nur gering sein, da 1. das Pansenepithel genügend reduzierte Substrate liefert und 2. durch die Pansenfermentation auch  $\text{NH}_4^+$ -Ionen entstehen, die ja bereits in geringer Konzentration den Glucoseeffekt aufheben.

#### 4.4. Allgemeine Folgerungen

Das Pansenepithel stellt einen metabolischen Mittler zwischen Pansenmilieu und Organismus dar: Über das Verhältnis Ketogenese:Oxydation und BHB:AcAc regelt es den Fluss von Reduktionsäquivalenten in den Organismus.

Da die Oxydationskapazität begrenzt ist, wird das den Stoffwechsel der Leber belastende Butyrat grösstenteils in das extrahepatische Substrat BHB transformiert.

Die "ketogene Wirkung der Glucose", ein neuartiges Phänomen, ist in die metabolische Regulation des Pansenepithels integriert. Der Effekt beschränkt sich nicht auf Glucose, sondern ist auch bei anderen Zuckern und Metaboliten nachzuweisen. Er beruht massgeblich auf der Metabolisierbarkeit und auf der Freisetzung von Reduktionsäquivalen-

ten.

Bei voller Pansenfermentation wird der ketogene Effekt von Glucose durch die im Pansen gebildeten  $\text{NH}_4^+$ -Ionen zurückgedrängt. Unter Bedingungen der hepatischen Ketogenese bei kataboler Stoffwechsellage kann das Pansenepithel hepatisches AcAc unter Verwendung von Reduktionsäquivalenten aus Glucose in BHB umwandeln und damit massgeblich zur Entgiftung beitragen. Dass dabei auch regulatorische Funktionen ausgeübt werden, ist in Anbetracht der besonderen Stellung von BHB im Stoffwechsel durchaus naheliegend.

Da in Caecum und Colon von monogastrischen Säugern ebenfalls fermentativ Butyrat gebildet und im Epithel teilweise zu Ketonkörpern umgesetzt wird, ist die "ketogene Wirkung von Glucose" möglicherweise nicht auf das Pansenepithel beschränkt.

## 5. Zusammenfassung

In Versuchen in vitro wurde an Pansenepithel von Rind und Schaf der Butyratstoffwechsel und seine Regulation untersucht. Das besondere Ziel dieser Untersuchungen bestand darin, die ketogene Wirkung von Glucose zu klären und funktionell einzuordnen.

Dabei ergab sich Folgendes:

1. Der Butyratstoffwechsel ist abhängig vom Alter der Tiere und von der funktionellen Entwicklung des Pansenepithels. Während die Butyratoxydation beim einwöchigen Tier schon voll entwickelt ist, wächst die Ketogenesefähigkeit beträchtlich, und zwar sowohl alters- als auch entwicklungsabhängig.
2. Zwischen Rind und Schaf bestehen nur deutliche Unterschiede im Reduktionsgrad des Pansenepithels, der beim Schaf wesentlich höher liegt als beim Rind (BHB:AcAc=11,7 gegenüber 4,1 beim Rind).
3. Die Zucker Glucose, Galaktose, Mannose fördern in unterschiedlichem Ausmass die Ketogenese und hemmen die Oxydation von Butyrat, nicht metabolisierbare Zucker haben keine ( $\alpha$ -Methyl-Glucose) oder nur geringe (2-Deoxy-Glucose) Wirkung.
4. Malat wirkt wie Glucose, nicht jedoch deren Metabolite Lactat und Pyruvat. Diese wirken genau umgekehrt.
5.  $\text{NH}_4^+$ -Ionen hemmen die Ketogenese und fördern die Butyratoxydation. Sie vermögen teilweise die Wirkung der Glucose aufzuheben.
6. Malonat als ein Hemmer des Citratzyklus hemmt die Butyratoxydation. Da mit dem Citratzyklus auch die Entstehung von Reduktionsäquivalenten gehemmt wird, geht auch die Ketogenese etwas zurück.
7. Ähnlich wie Malonat, aber weniger ausgeprägt, wirkt das Aspartat.

Anhand dieser Ergebnisse werden die Reduktionsäquivalente als wichtigste Regler des Butyratstoffwechsels herausge-

stellt und die Regulation der ruminalen Ketogenese mit der der hepatischen Ketogenese verglichen.

Der ketogene Effekt der Glucose und seine funktionelle Bedeutung werden diskutiert.

## Summary

Using ovine and bovine rumen epithelia the in vitro metabolism of butyrate and its regulation was examined. The aim was to elucidate the ketogenic effect of glucose and its significance in the metabolism of the rumen epithelium.

The following results were obtained:

1. The metabolism of butyrate depends on the age of the donor animals and on the functional development of the rumen epithelium. The oxidation of butyrate is completely developed in one week old animals but the rate of ketogenesis rises with age and development of the epithelium.
  2. Between cow and sheep there are only differences in the reduction potential of the rumen epithelium which is very much higher in the sheep (BHB:AcAc=11,7) than in the cow (BHB:AcAc=4,1).
  3. Glucose, Galactose, Mannose are ketogenic and inhibit the oxidation of butyrate. Sugars that cannot be metabolized have no ( $\alpha$ -Methyl-Glucose) or a minor (2-Deoxy-Glucose) effect.
  4. Malate acts like glucose, but lactate and pyruvate, metabolites of glucose, have an inverse effect.
  5.  $\text{NH}_4^+$ -Ions inhibit ketogenesis and stimulate the oxidation of butyrate. They partially abolish the effect of glucose.
  6. Malonate inhibits the TCA-Cycle and consequentially the oxidation of butyrate. Since many reduction equivalents originate from the TCA-Cycle ketogenesis is also inhibited.
  7. Similar, but less pronounced, is the effect of aspartate.
- Based on these results, the reduction equivalents turn out to be the major regulator of butyrate metabolism. The regulation of the ruminal ketogenesis is compared to the regulation of hepatic ketogenesis.

The ketogenic effect of glucose and its functional significance are discussed.

## 6. Literaturverzeichnis

ANAND, R.S., BLACK, A.C., 1970

Species Difference in the Glucogenic Behaviour  
of Butyrate in Lactating Ruminants  
Comp.Biochem.Physiol., 33, 129-142

ANNISON, E.F., LENG, R.A., LINDSAY, D.B., WHITE, R.R., 1963

The Metabolism of Acetic, Propionic and Butyric  
Acid in Sheep  
Biochem.J. 88, 248-251

ANONYMUS, 1979

Hormonal Regulation of Hepatic Ketogenesis-  
Pivotal Role of Malonyl-CoA  
Nutrition Reviews 37, 236-237

ASH, R., BAIRD, G.D., 1973

Activation of Volatile Fatty Acids in Bovine  
Liver and Rumen Epithelium  
Biochem.J. 136, 311-319

BAIRD, G.D., HIBBIT, K.G., LEE, J., 1970

Enzymes Involved in Acetoacetate Formation in  
Various Bovine Tissues  
Biochem.J. 117, 703-709

BAIRD, G.D., HEIZMAN, R.J., HIBBIT, K.G., 1972

Effects of Starvation on Intermediary  
Metabolism in the Lactating Cow  
Biochem.J. 128, 1311-1318

BATES, M.W., KREBS, H.A., WILLIAMSON, D.H., 1968

Turnover Rates of Ketone Bodies in Normal,  
Starved, and Alloxan-Diabetic Rats  
Biochem.J. 110, 655-661

BATH, J.H., ROOK, J.A.F., 1965

The Evaluation of Cattle Foods and Diets in  
Terms of the Concentration of VFA  
J.Agric.Sci. 64, 67-70

- BERGMAN, E.N., REID, R.S., MURRAY, M.G., BROCKWAY, J.M.,  
 WHITE LAW, F.G., 1965  
 Interconversion and Production of Volatile  
 Fatty Acids in Sheep Rumen  
 Biochem.J. 97, 53-58
- BERGMAN, E.N., 1971  
 Hyperketonemia-Ketogenesis and Ketone Body  
 Metabolism  
 J.Dairy Sci. 54, 936-948
- BRASS, E.P., HOPPEL, C.L., 1978  
 Carnitin Metabolism in the Fasting Rat  
 J.Biol.Chem. 254, 5423-5429
- BRÜGGEMANN, J., GIESECKE, D., LAWLOR, M.J., 1966  
 Über die Produktion flüchtiger Fettsäuren im  
 Pansen von Schafen bei Verabreichung einer  
 halbgereinigten Diät  
 Z.Tierphysiol.Tierernährg.u.Futtermittel-  
 kde. 21 137-142
- BUSH, R.S., MILLIGAN, L.P., KRISHNAMURTI, C.R., 1970  
 Effects of Propionate on the Ketogenesis from  
 Butyrate by Rumen Epithelium  
 Can.J.Anim.Sci. 50, 210
- BUSH, R.S., MILLIGAN, L.P., 1971  
 Enzymes of Ketogenesis in Bovine Rumen  
 Epithelium  
 Can.J.Anim.Sci. 51, 129-133
- DAWSON, R.M.C. ELLIOTT, D.C. ELLIOTT, W.H., JONES, K.M., 1959  
 Data for Biochemical Research, Oxford at the  
 Clarendon Press
- DE LAHUNTA, A., 1965  
 Dehydrogenase Histochemistry of Bovine Rumen  
 Epithelium with Comparison to Esophageal  
 Epithelium and Epidermis  
 Am.J.Vet.Res. 26, 113-124

DIRKSEN, G., 1974

Ketose des Rindes-Klinische Beobachtungen über  
Ätiologie und Prophylaxe  
Bericht des 8.-Intern.Meeting on Diseases of  
Cattle, Mailand, 1974, S.345-355

DOCUMENTA GEIGY, 1968

Wissenschaftliche Tabellen, 7. Auflage  
Redaktion: .Diem und C.Leutner  
Herausgeber: J.R.Gegy AG, Pharma, Basel

EMMANUEL, B., STANGASSINGER, M., GIESECKE, D., 1979

Specific Methods for the Determination of  
Radioactivity in D-(-)-3-Hydroxybutyrate in  
Blood Plasma

Annals of Clinical Biochemistry 16, 155-160

EMMANUEL, B., 1980

Oxidation of Butyrate to Ketone Bodies and CO<sub>2</sub>  
in the Rumen Epithelium, Liver, Kidney, Heart and  
Lung of Camel, Sheep and Goat  
Comp.Biochem.Physiol. 55, 699-704

FELL, B.F., WEEKES, T.E.C., 1975

Food Intake and Adaption in the Ruminant  
Epithelium  
in: Digestion and Metabolism in the Ruminant  
Ed. McDonald, J.W. und Warner, A.C.I., the  
University of New England Publishing Unit,  
Armidale, N.S.W., Australia, Seite 216-230

GIESECKE, D., 1967

Gaschromatographische Bestimmung flüchtiger  
Fettsäuren und ihre Produktion im Pansen  
Z.Tierphysiol.Tierernährg.u.Futtermittelkde. 22,  
354-359

GIESECKE, D., 1973

Mikrobielle Besiedlung und funktionelle Entwicklung des Vormagens der Wiederkäuer  
in: Giesecke, D., Henderickx, H.-K. (Hrg.), Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung,  
Seite 108-125

GIESECKE, D., 1974

Respiration and Glucose Utilization by Rumen Epithelium during Functional Development  
IV International Symposium on Ruminant Physiology, Program Handbook, Seite 13

GIESECKE, D., BECK, U., WIESMAYR, S., STANGASSINGER, M., 1978

The Effect of Rumen Epithelial Development on Metabolic Activities and Ketogenesis by the Tissue in vitro  
Comp. Biochem. Physiol. 62, 459-463

HODFREY, N.W., 1961

The Functional Development of the Calf  
I. Growth of the Stomach of the Calf  
J. Agric. Sci. 57, 173-175

GOOSEN, P.C.M., 1976

Metabolism in Rumen Epithelium, Oxidation of Substrates and Formation of Ketone Bodies by Pieces of Rumen Epithelium  
Z. Tierphysiol. Tierernährg. u. Futtermittelkde. 37, 14-25

GRAY, F.V., WELLER, R.A., PILGRIM, A.F., JONES, G.B., 1966

The Rates of Production of Volatile Fatty Acids in the Rumen  
Austr. J. Agric. Res. 17, 69-73

HAWKINS, R.A., WILLIAMSON, D.H., KREBS, H.A., 1972

Ketone Body Utilization by Adult and Suckling Rat Brain in vivo  
Biochem. J. 122, 13-18

- HENRIKSON, R.C., 1970  
Ultrastructure of Ovine Ruminal Epithelium  
and Localization of Sodium in the Tissue  
J.Ultrastructure Res. 30, 385-401
- HERTELENDY, F., MACHLIN, L., KIPNIS, D.M., 1969  
Further Studies on the Regulation of Insulin  
and Growth Hormone Secretion in the Sheep  
Endocrinology 84, 192-199
- HIRD, F.J.R., SIMONS, R.H., 1961  
Mode of Formation of Ketone Bodies from  
Butyrate by Tissue from Rumen and Omasum of  
the Sheep  
Biochem.Biophys.Acta 46, 457-467
- HIRD, F.J.R., WEIDEMANN, M.J., 1964  
Ketone Body Synthesis in Relation to Age of  
Lambs  
Biochem.J. 93, 423-430
- HODSON, H.H., MCGILLIARD, A.D., JACOBSON, N.L., ALLEN, R.S., 1965  
Metabolic Role of Rumen Mucosa in Absorption  
of Butyrate  
J.Dairy Sci. 48, 1652-1656
- HÖRNICKE, H., 1964  
Der Stoffaustausch durch die Wand des Wieder-  
käuermagens  
Z.Tierphysiol.Tierernährg.u.Futtermittel-  
kde. 19, 92-117
- HOFMANN, R., 1969  
Zur Topographie und Morphologie des Wiederkäuer-  
magens im Hinblick auf seine Funktion  
Beiheft 10 zum Zbl.Vet.Med.
- HOLTER, J.B., MCCARTHY, R.D., KESLER, E.M., 1963  
Butyrate Metabolism in the Isolated Goat Liver  
J.Dairy Sci. 46, 1256-1259
- HORINO, M., MACHLIN, L.J., HERTELENDY, F., KIPNIS, D.M., 1968  
Effect of Short-Chain-Fatty Acids on Plasma  
Insulin in Ruminant and Nonruminant Species  
Endocrinology 83, 118-128

- HUTH, W., STERMANN, R., HOLZE, G., SEUBERT, W., 1978  
 Regulation of Ketogenesis at the Site of  
 Acetyl-CoA-Acetyltransferase  
 in: Biochemical and Clinical Aspects of Ketone  
 Body Metabolism, Ed. Söling, H.D., Seufert, C.D.,  
 Georg Thieme Verlag 1978, Seite 11-23
- HYDEN, S., SPERBER, J., 1965  
 Elektron Microscopy of the Ruminant Forestomach  
 in: Physiology of Digestion in the Ruminant  
 Ed. Dougherty, R.W., Butterworth, London,  
 Seite 51-60
- JENKINS, D.J.A., HUNTER, W.M., GOFF, D.V., 1970  
 Ketone Bodies and Evidence for Increased  
 Insulin Secretion  
 Nature 327, 384-385
- KAMMULA, R.G., 1976  
 Metabolism of Ketone Bodies by Ovine Brain  
 in vivo  
 Am.J.Physiol. 231, 1490-1494
- KANEKO, J.J., 1970  
 Electrolyte Balance and Acidosis  
 in: Clinical Biochemistry of Domestic Animals,  
 Ed. Kaneko, J.J., Cornelius, C.E., Academic Press,  
 1970, Seite 36
- KAUFMANN, W., ROHR, K., 1967  
 Ergebnisse gaschromatographischer Bestimmung  
 der flüchtigen Fettsäuren im Pansen bei unter-  
 schiedlicher Fütterung  
 Z.Tierphysiol.Tierernährg.u.Futtermittel-  
 kde. 22, 1-8
- KATZ, M.L., BERGMAN, E.N., 1966  
 Acid-Base and Electrolyte Equilibrium in Ovine  
 Pregnancy Ketosis  
 Am.J.Vet.Res. 27, 1285-1291

KEDENBURG, C.P., 1972

Der Einfluss von Ketonkörpern auf die Insulin-  
ausschüttung beim Schaf

Zbl.Vet.Med.A 19, 318-326

KELLEY, R.O., MARTZ, F.A., JOHNSON, H.D., 1967

Effect of Environmental Temperature on  
Ruminal Volatile Fatty Acid Levels with  
Controlled Feed Intake

J.Dairy Sci. 50, 531-533

KOSAK, F., 1980

Untersuchungen über die Konzentration der  
Freien Fettsäuren im Blutplasma zur Ermittlung  
stoffwechselphysiologischer Leistungsgrenzen  
bei Hochleistungskühen

Inaugural-Dissertation der Tierärztlichen  
Fakultät der LMU München

KOUNDAKJIAN, P.P., SNOSWELL, A.M., 1970

Ketone Body and Fatty Acid Metabolism in  
Sheep Tissues

Biochem.J. 119, 49-57

KOUNDAKJIAN, P.P., SNOSWELL, A.M., 1972

3-Hydroxybutyric-Dehydrogenase in Sheep Tissues  
Biochem.J. 127, 449-452

KREBS, H.A., MELANBY, J., WILLIAMSON, D.H., 1962

The Equilibrium Constant of the  
 $\beta$ -Hydroxybutyric-Dehydrogenase System

Biochem.J. 82, 96-98

KRONFELD, D.S., 1956

Effect of Butyrate Administration on Blood  
Glucose in Sheep

Nature 178, 1290-1291

LENG, R.A., ANNISON, E.F., 1964

The Metabolism of 3-Hydroxybutyrate in Sheep  
Biochem.J. 90, 464-469

LENG, R.A., WHITE, R.R., 1964

Possible Glucogenicity of D-3-Hydroxybutyrate  
in Sheep

Nature 201, 78

LENG, R.A., WEST, C.E., 1969

Contribution of Acetate, Butyrate, Palmitate and  
Oleate to Ketone Body Synthesis in Sheep  
Res.Vet.Sci. 10, 57-63

MADISON, L.L., MEBANE, D., UNGER, R.H., LOCHNER, A., 1964

The Hypoglycemic Action of Ketones, II. Evidence  
for a Stimulatory Feedback of Ketones on the  
Pancreatic  $\beta$ -Cells

J.Clinical Investigation 43, 408-415

MCCARTHY, S., SMITH, G.H., 1972

Synthesis of Milk Fat from  $\beta$ -Hydroxybutyrate  
and Acetate by Ruminant Mammary Tissue in  
vitro

Biochim.Biophys.Acta 260, 185-196

MCGARRY, J.D., TACABAYASHI, Y., FOSTER, D.W., 1978

The Role of Malonyl-CoA in the Coordination  
of Fatty Acid Synthesis and Oxidation in  
Isolated Rat Hepatocytes

J.Biol.Chem. 253, 8294-8300

MEDL, M., 1978

Untersuchungen zur postnatalen Entwicklung des  
transepithelialen Natrium- und Chloridtrans-  
ports der Pansen- und Kropfmucosa  
Inaugural-Dissertation der Tierärztlichen  
Fakultät der LMU München

MELLANBY, J., WILLIAMSON, D.H., 1974

Acetacetat

in: Methoden der enzymatischen Analyse von  
H.U.Bergmeyer, Verlag Chemie, Weinheim/Berg-  
strasse, Seite 1887-1890

MENAHAN, L.A., SCHULTZ, L.H., HOEKSTRA, W.G., 1966

Factors affecting Ketogenesis from Butyric  
Acid in the Ruminant

J.Dairy Sci. 49, 835-844

- METZ, S.H.M., VAN DEN BERGH, S.G., 1972  
Effects of Volatile Fatty Acids, Ketone Bodies,  
Glucose and Insulin on Lipolysis in Bovine  
Adipose Tissue  
FEBS Letters 21, 203-206
- METZ, S.H., LOPES-CARDOZO, M., VAN DEN BERGH, S.G., 1974  
Inhibition of Lipolysis in Bovine Adipose  
Tissue by Butyrate and  $\beta$ -Hydroxybutyrate  
FEBS Letters 47, 19-22
- MULDER, I., VRIES-AKKERMAN, E., VAN DEN BERGH, S.G., 1977  
Conversion of Acetyl-Coenzyme A into  
Acetoacetate in Subcellular Liver Preparations  
Shifts in Enzyme Activities in Liver Cell  
Fractions of ketotic Rats and Cows  
Int.J.Biochem.8, 237-241
- NICOLAI, J.H., STEWART, W.E., 1965  
Relationship between Forestomach and  
Glycemia in Ruminants  
J.Dairy Sci.48, 56-60
- NIELSEN, N.C., FLEISCHER, S., 1969  
 $\beta$ -Hydroxybutyrate Dehydrogenase: Lack in  
Ruminant Liver Mitochondria  
Science 166, 1017-1019
- NOSADINI, R., DATTA, H., HODSON, A., ALBERTI, K.G.M.M., 1980  
A Possible Mechanism for the Anti-Ketogenic  
Action of Alanine in the Rat  
Biochem.J., 190, 323-332
- ØRSKOV, E.R., FRASER, C., McDONALD, J., 1971  
Digestion of Concentrates in Sheep  
Br.J.Nutrition 25, 243-252
- PARVIN, R., PANDE, S.H., 1979  
Enhancement of Mitochondrial Carnitine and  
Carnitin-Acylcarnitin Translocase-mediated  
Transport of Fatty Acids into Liver  
Mitochondria under Ketogenic Conditions  
J.Biol.Chem.254, 5423-5429

PENNINGTON, R.J., 1952

The Metabolism of Short-Chain Fatty Acids  
in the Sheep

Biochem.J. 51, 251-258

PENNINGTON, R.J., SUTHERLAND, T.M., 1956

Ketone-Body Production from Various Substrates  
by Sheep-Rumen Epithelium

Biochem. 63, 353-361

PHILLIPS, R.W., 1978

Religious Revelations and Bovine Ketosis  
(A Nonsacred Cow)

Perspectives in Biology and Medicine 21, 398-405

PRINS, R.A., VAN VUGT, F., LANKHORST, A., AKKERMAN-KRUYSWIJK, J.,  
1974

Metabolism of Lactate Isomers by Rumen Mucosa  
J.Dairy Sci. 57, 556-561

REED, W.D., CLINKENBEARD, K.D., LANE, M.D., 1975

Molecular and Catalytic Properties of  
Mitochondrial (Ketogenic) 3-Hydroxy-3-methyl-  
glutaryl-Coenzyme A-Synthase in Liver  
J.Biol.Chem. 250, 3117-3123

REID, R.L., 1968

The Physiopathology of Undernourishment in  
Pregnant Sheep

Advances in Vet.Sci. 12, 163-171

RUDERMAN, N.B.; GOODMAN, M.N., 1973

Regulation of Ketone Body Metabolism in  
Skeletal Muscle

Am.J.Physiol. 224, 1391-1397

SACHS, L., 1972

Statistische Auswertungsmethoden

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

- SAKATA, T., TAMATE, H., 1978a  
Rumen Epithelial Cell Proliferation  
Accelerated by Rapid Increase in Intraruminal  
Butyrate  
J. Dairy Sci. 61, 1109-1113
- SAKATA, T., TAMATE, H., 1978b  
Presence of Circadian Rhythm in the Mitotic  
Index of Rumen Epithelium in Sheep  
Res. Vet. Sci. 24, 1-3
- SANDER, E. G., WARNER, R. G., HARDISON, W. A., LOOSLI, J. K., 1959  
The Stimulatory Effect of Sodium Butyrate and  
Sodium Propionate on the Development of Rumen  
Mucosa in the Young Calf  
J. Dairy Sci. 42, 1600-1605
- SASAKI, J., WEEKES, T. E. C., BRUCE, J. B., 1977  
Effects of Glucose and Butyrate on Insulin  
Release from Perfused Fragments of Sheep  
Pancreas  
J. Endocr. 72, 415-416
- SCHARRER, E., BLATT, J., 1976  
In vitro Untersuchungen zur Aminosäuren-Auf-  
nahme in die Leber- und Muskelzelle beim Lamm  
Zbl. Vet. Med. A 23, 121-130
- SOLLMAN, T. A., 1948  
A Manual of Pharmacology, 7th ed. Saunders,  
Philadelphia
- STANGASSINGER, M., BECK, U., EMMANUEL, B., 1979  
Is Glucose Ketogenic in Rumen Epithelium?  
Ann. Rech. Vét. 10, 413-416
- STERN, J. S., BAILE, C. A., MAYER, J., 1970  
Are Propionate and Butyrate Physiological  
Regulators of Plasma Insulin in Ruminants?  
Am. J. Physiol. 219, 89-91
- SUTTON, J. D., MCGILLIARD, A. D., RICHARD, M., JACOBSON, N. L., 1963  
Functional Development of Rumen Mucosa,  
II. Metabolic Activity  
J. Dairy Sci. 46, 530-537

- TAMATE, H., MCGILLIARD, A. D., JACOBSON, N. L., GETTY, R., 1962  
Effect of Various Dietaries on the Anatomical  
Development of the Stomach in the Calf  
J. Dairy Sci. 45, 408-420
- TRAUTMANN, A., SCHEMITT, J., 1933  
Beiträge zur Physiologie des Wiederkäuermagens  
Über den Schlundrinnenreflex bei kleinen Wiederkäuern  
Archiv Tierern. Tierzucht 9, 1-7
- TSAI, Y. C., CASTILLO, L. S., HARDISON, W. M., PAYNE, W. J. A., 1978  
Effect of Dietary Fiber Level on Lactating  
Dairy Cows in the Humid Tropics  
J. Dairy Sci. 50, 1126-1129
- TARNAM, G. C. E., JEACOCK, M. K., SHEPHERD, D. A. L., 1978  
Hepatic Ketone-Body Metabolism in Developing  
Sheep and Pregnant Ewes  
Br. J. Nutr. 40, 359-367
- WALKER, D. M., SIMMONDS, R. A., 1962  
The Development of the Digestive System of  
the Young Animal  
J. Agric. Sci. 59, 375-379
- WARNER, R. G., FLATT, W. P., 1965  
Anatomical Development of the Ruminant Stomach  
in: Physiology of Digestion in the Ruminant  
Ed. Dougherty, R. W., Butterworth, London, Seite 24-38
- WATSON, H. R., LINDSAY, O. B., 1972  
3-Hydroxybutyrate-Dehydrogenase in Tissues  
from Normal and Ketonaemic Sheep  
Biochem. J. 128, 53-57
- WEEKES, T. E. C., 1971  
Role of the Rumen Mucosa in Sheep, Relative  
Changes in Weight and in Ability to Metabolize  
Propionate during Pregnancy and Lactation  
Res. Vet. Sci. 12, 373-376

- WEIGAND, E., YOUNG, J.W., MCGILLIARD, A.D., 1972  
Extent of Butyrate Metabolism by Bovine  
Ruminoreticulum Epithelium and the  
Relationship to Absorption Rate  
J.Dairy Sci. 55, 589-597
- WEIGAND, E., YOUNG, J.W., MCGILLIARD, A.D., 1975  
Extent of Butyrate Metabolism by Rumen Mucosa  
from Cattle Fed Hay and Grain  
J.Dairy Sci. 58, 1294-1300
- WESTON, R.H., HOGAN, J.P., 1968  
The Digestion of Pasture Plants by Sheep  
I. Ruminal Production of Volatile Fatty Acids  
by Sheep Offered Diets of Ryegrass and Forage  
Oats  
Austr. J. Agric. Res. 19, 419-432
- WHANGER, P.D., CHURCH, D.C., 1970  
Enzyme Activity of Ruminant Digestive Tract  
Epithelial Tissue  
J. Anim. Sci. 30, 944-948
- WILLIAMSON, D.H., KUENZEL, P., 1971  
The Nature of the "Cytoplasmatic 3-Hydroxy-  
Butyrate-Dehydrogenase" from Sheep Kidney  
Biochem. J. 121, 569-570
- WILLIAMSON, D.H., MELLANBY, J., 1974  
D-(-)-3-Hydroxybutyrate  
in: Methoden der enzymatischen Analyse von  
H.U. Bergmeyer, Verlag Chemie, Weinheim/Berg-  
strasse, Seite 1883-1886
- WINDER, W.W., BALDWIN, K.M., HOLLOSZY, J.O., 1975  
Exercise-induced Increase in the Capacity of  
Rat Skeletal Muscle to Oxidize Ketones  
Can. J. Physiol. Pharmacol. 53, 86-91
- WINDMÜLLER, H.G., SPÄTH, A.E., 1978  
Identification of Ketone Bodies and Glutamine  
as the Major Respiratory Fuels in vivo for  
Postabsorptive Rat Small Intestine  
J. Biol. Chem. 253, 69-76

YOUNG, J.W., THORP, S.L., DeLUMEN, H.Z., 1969

Activity of Selected Gluconeogenic and Lipogenic Enzymes in Bovine Rumen Mucosa, Liver and Adipose Tissue

Biochem.J. 114, 83-87

ZAMMIT, V.A., 1980

The Effect of Glucagon Treatment and Starvation of Virgin Rats on the Rates of Oxidation of Octanoyl-L-Carnitine and Octanoate by Isolated Liver Mitochondria

Biochem.J. 190, 293-300

ZAMMIT, V.A., 1981

Intrahepatic Regulation of Ketogenesis

TIBS 1981, 46-49



Am Ende meiner Doktorarbeit möchte ich allen denen ganz herzlich danken, die zum Gelingen beigetragen haben:

der Institutsleitung für die gewährten Arbeitsmöglichkeiten

Herrn Professor Dr. D.Giesecke für die Überlassung des Themas, die immer und gern gewährte Unterstützung und die vielen wissenschaftlichen Anregungen

allen Mitarbeitern des Labors für ihre Hilfsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit

und endlich meinem Schwager N.Voegler (Institut für Physik der Universität Mainz) für die Computergraphiken.



## Lebenslauf

Name: Ulrike Beck

20.12.1956 als Tochter des Dr.med. Hans Beck und seiner Frau Erika, geb. Hansberger in Freiburg im Breisgau geboren

1962-1966 Besuch der Heinrich-Feurstein-Schule in Donaueschingen

1966-1975 Besuch des Fürstenberg-Gymnasiums in Donaueschingen

1975-1980 Studium der Tiermedizin an der Universität München

1980 Staatsexamen und Approbation als Tierarzt

seit 1.7.1981 vollbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie, Tierärztliche Fakultät der Universität München





